

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Biología reproductiva de *Lachemilla hirta* (L.M. Perry) Rothm. y *Lachemilla*

***hispidula* (L.M. Perry) Rothm. en los Páramos de Oyacachi.**

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias Biológicas

Fernanda Samaniego Pinto

Quito, 2014

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la candidata
Fernanda Samaniego Pinto ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas;
por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Katya Romoleroux,
Directora de la Disertación

Quito, 25 de Abril de 2014

*Hay que reír y llorar, amar, trabajar, gozar y sufrir;
en fin, vibrar todo lo que se pueda y en todos los sentidos.
¿No consiste en esto lo verdaderamente humano?*

Gustave Flaubert

*A veces podemos pasarnos años sin vivir en absoluto,
y de pronto toda nuestra vida se concentra en un solo instante*

Oscar Wilde

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a la Dra. Katya Romoleroux por haberme dado la oportunidad de trabajar en el Herbario QCA durante todos estos años, y en especial por permitirme realizar esta tesis. Muchas gracias por todo su tiempo, consejos y paciencia brindada.

Un agradecimiento al Laboratorio de Paleobotánica, dirigido por la Ms. Susana León, por la entrega de las fotos de polen que permitieron la realización de esta tesis. A Jorge Castillo, quien me ayudó con las fotos de las placas de polen. A la Ms. Susana León por haber aceptado ser mi lectora, y por todos sus consejos y sugerencias. Y un agradecimiento especial a Andre Villota, quien me ayudó en la realización de las placas de polen.

A Verito Crespo, muchas gracias por haber aceptado ser mi lectora, y gracias por todos los valiosos comentarios aportados a este trabajo.

Al Dr. Filip Kolář y Dr. Tomas Urfus, porque sin ellos parte de esta tesis no se hubiese realizado, muchas gracias.

Gracias a Mercedes Rodríguez, Directora de la Escuela de Ciencias Biológicas por el apoyo y facilidades brindadas para la realización de esta investigación.

A Florencio y David Donoso muchas gracias por la ayuda en la identificación de insectos y por proporcionarme artículos científicos de importancia para mi investigación.

A la Comunidad de Oyacachi un agradecimiento inmenso por permitirme realizar esta investigación. A los Señores Parión, muchas gracias por su hospitalidad.

Al Ministerio del Ambiente muchas gracias por los permisos de investigación otorgados.

Muchas gracias a Lulo por las lindas fotografías de las flores, me sirvieron mucho.

Un agradecimiento inmenso a toda la gente que trabaja en el Herbario, en especial a Carmita, Silvita, Tania y Alvarito Pérez.

De igual forma quisiera agradecer a mis amigos Cami, Afrito, Belencita y Javo, por estar siempre a mi lado ayudándome, escuchándome y aconsejándome. A Mayra y Santi por su valiosa ayuda en parte de esta tesis.

A Álvaro Barragán (¡y sobre todo a súper Jimmy!) muchísimas gracias por tu compañía, por aguantarme los mal genios, por tus consejos y recomendaciones, he aprendido muchas cosas a tu lado.

Por último este trabajo está dedicado a mi familia, a quien se lo debo todo. A mi abuelita muchas gracias por su constante preocupación y ánimos brindados.

Madre mía muchas gracias por todo su sacrificio; sin usted yo no estaría aquí, ni sería lo que soy. A mi padre, que pese a que no está presente, siempre lo tengo en mi corazón; cada logro mío está dedicado a él.

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE TABLAS	xi
LISTA DE ANEXOS	xiii
1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT	3
3. INTRODUCCIÓN	5
3.1 DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO <i>Lachemilla</i> (Focke) Rydb.....	6
3.2 BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL GÉNERO <i>Lachemilla</i> (Focke) Rydb....	6
3.2.1 POLINIZACIÓN	6
3.2.2 APOMIXIS	8
3.3 OBJETIVOS	10
3.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	10
3.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
4. MATERIALES Y MÉTODOS	11
4.1 ÁREA DE ESTUDIO	11
4.1.1 GEOLOGÍA Y CLIMA	11
4.1.2 VEGETACIÓN ASOCIADA	12
4.1.3 COMUNIDAD DE OYACACHI	13
4.1.4 DESCRIPCIÓN <i>Lachemilla hirta</i> (L.M. Perry) Rothm.	14
4.1.5 DESCRIPCIÓN <i>Lachemilla hispidula</i> (L.M. Perry) Rothm.	14
4.2 BIOLOGÍA REPRODUCTIVA	15

4.2.1	POLINIZACIÓN	16
4.2.2	APOMIXIS	18
5.	RESULTADOS	20
5.1	POLINIZACIÓN	20
5.1.1	ENTOMOFAUNA DEL PÁRAMO DE OYACACHI	20
5.1.2	FORMACIÓN DE FRUTOS	21
5.1.3	VISITADORES, PARASITOIDES E HIPERPARASITOIDES	22
5.2	APOMIXIS	23
6.	DISCUSIÓN	26
6.1	POLINIZACIÓN	26
6.1.1	ENTOMOFAUNA DEL PÁRAMO DE OYACACHI	26
6.1.2	FORMACIÓN DE FRUTOS	27
6.1.3	VISITADORES, PARASITOIDES E HIPERPARASITOIDES	29
6.2	APOMIXIS	32
7.	CONCLUSIONES.....	36
8.	RECOMENDACIONES.....	38
9.	LITERATURA CITADA	40
10.	FIGURAS.....	51
11.	TABLAS.....	65
12.	ANEXOS.....	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Hábito de <i>Lachemilla hirta</i>	52
Figura 2. Inflorescencia (superior) y detalle floral (inferior) de <i>Lachemilla hirta</i>	53
Figura 3. Hábito de <i>Lachemilla hispidula</i>	54
Figura 4. Inflorescencia (superior) y detalle floral (inferior) de <i>Lachemilla hispidula</i>	54
Figura 5. Protección de malla de acero en <i>Lachemilla hispidula</i>	55
Figura 6. Tratamiento de bolsas de organza en <i>Lachemilla hirta</i> (izquierda) y <i>L. hispidula</i> (derecha).	55
Figura 7. Trampas pegantes para determinar la composición de la entomofauna del área de estudio.	56
Figura 8. Tratamiento de bolsas de cera en <i>Lachemilla hirta</i> (izquierda) y <i>L. hispidula</i> (derecha).	56
Figura 9. Composición de la entomofauna del área de estudio de la población de <i>Lachemilla hirta</i>	57
Figura 10. Composición de la entomofauna del área de estudio de la población de <i>Lachemilla hispidula</i>	57
Figura 11. Los visitantes de la familia Scatopsidae en las flores de <i>Lachemilla hirta</i> (arriba) y <i>L. hispidula</i> (abajo).	58
Figura 12. Polen de <i>Lachemilla hirta</i> obtenido en los insectos colectados. Vista polar (izquierda) y vista ecuatorial (derecha).....	59
Figura 13. Polen de <i>Lachemilla hispidula</i> obtenido en los insectos colectados. Vista polar (izquierda) y vista ecuatorial (derecha).....	59
Figura 14. Polen del complejo Moraceae/Urticaceae (foto izquierda, las medidas corresponden al grano de polen a), Bromeliaceae (<i>Puya</i> sp.) (centro) y Poaceae (derecha), obtenido en los insectos colectados.	60

Figura 15. Temperatura promedio del suelo durante los meses de junio del 2013 a enero del 2014, en la población de <i>Lachemilla hirta</i>	60
Figura 16. Temperatura media registrada en la localidad de Papallacta desde el año 2003 al 2012, a 3150 m. de altitud (Datos tomados del INAMHI).	61
Figura 17. Actividad de la entomofauna durante los meses de observación y colecta en <i>Lachemilla hirta</i> y <i>L. hispidula</i>	61
Figura 18. Actividad de la entomofauna durante las horas de observación y colecta en <i>Lachemilla hirta</i> y <i>L. hispidula</i>	62
Figura 19. Histograma de la apomixis autónoma obligatoria en <i>Lachemilla hirta</i> . Primer pico correspondiente al embrión 2x, segundo pico, al endospermo 4x. Tercer pico corresponde a la muestra estándar (<i>Pisum sativum</i>).	62
Figura 20. Histograma de la apomixis pseudógama en <i>Lachemilla hirta</i> . Primer pico correspondiente al embrión 2x, segundo pico, al endospermo 6x. Tercer pico corresponde a la muestra estándar (<i>Pisum sativum</i>).	63
Figura 21. Histograma de la apomixis autónoma obligatoria en <i>Lachemilla hispidula</i> . Primer pico correspondiente al embrión 2x, segundo pico, al endospermo 4x. Tercer pico corresponde a la muestra estándar (<i>Pisum sativum</i>).	63
Figura 22. Histograma de embriones triploides en <i>Lachemilla hispidula</i> . Primer pico embrión 3x, segundo pico corresponde a la muestra estándar (<i>Pisum sativum</i>).....	64
Figura 23. Porcentaje de vías apomíticas reproductivas encontradas en <i>Lachemilla hirta</i> y <i>L. hispidula</i>	64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Anova de un factor que muestra las medias del número de frutos producidos por cada flor de <i>Lachemilla hirta</i> en los tratamientos de bolsas de organza y control durante el invierno.	66
Tabla 2. Prueba de Mann-Whitney para comparar la formación de frutos en las flores de <i>Lachemilla hirta</i> con los tratamientos de bolsas de organza y control durante el invierno.	66
Tabla 3. Anova de un factor que muestra las medias del número de frutos producidos por cada flor de <i>Lachemilla hirta</i> en los tratamientos de bolsas de organza y control durante el verano.	66
Tabla 4. Prueba de Mann-Whitney para comparar la formación de frutos en las flores de <i>Lachemilla hirta</i> con los tratamientos de bolsas de organza y control durante el verano.	66
Tabla 5. Anova de un factor que muestra las medias del número de frutos producidos por cada flor de <i>Lachemilla hispidula</i> en los tratamientos de bolsas de organza y control durante el invierno.	67
Tabla 6. Prueba de Mann-Whitney para comparar la formación de frutos en las flores de <i>Lachemilla hispidula</i> con los tratamientos de bolsas de organza y control durante el invierno.	67
Tabla 7. Lista de visitantes, parasitoides e hiperparasitoides encontrados en <i>Lachemilla hirta</i>	68
Tabla 8. Lista de visitantes, parasitoides e hiperparasitoides encontrados en <i>Lachemilla hispidula</i>	70

Tabla 9. Resultados de la citometría de flujo de las semillas de <i>Lachemilla hirta</i> , obtenidas de los tratamientos de papel cera, organza y control, durante las estaciones de invierno y verano.....	71
Tabla 10. Resultados de la citometría de flujo de las semillas de <i>Lachemilla hispidula</i> , obtenidas de los tratamientos de papel cera, organza y control, durante el invierno...	73
Tabla 11. Vías reproductivas apomícticas encontradas en las especies <i>Lachemilla hirta</i> y <i>L. hispidula</i>	74

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Características florales de plantas polinizadas por el viento o por animales.....	76
Anexo 2. Diagrama de los mecanismos apomícticos y sexuales en el ciclo de vida de las Angiospermas.	77
Anexo 3. Glosario	78

1. RESUMEN

Lachemilla es un género que consta de 27 especies distribuidas en los páramos y súper-páramos de los Andes ecuatorianos, el súper-páramo es la región donde el género es uno de los más representativos, con alrededor de 11 especies. Pese a esta alta representación en número de especies, *Lachemilla* es uno de los géneros cuya biología reproductiva aún no ha sido estudiada.

En la presente tesis, se estudió la polinización y apomixis en dos especies de *Lachemilla*: *L. hirta* y *L. hispidula*. Para los ensayos de polinización se recubrieron las inflorescencias de 24 individuos de cada especie con bolsas de organza y 24, correspondientes al control, se mantuvieron sin cobertura. Los frutos formados en cada repetición de cada tratamiento, fueron contabilizados y comparados. En *Lachemilla hirta*, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos control con las bolsas de organza, mientras que en *L. hispidula*, se encontraron diferencias altamente significativas entre tratamientos, siendo el control donde más producción de frutos existió. Estos resultados en la producción de frutos sugieren que ambas especies son apomícticas.

También se estudió la fauna asociada a las especies de *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*. En las observaciones directas y colecciones realizadas, se encontró que los diferentes insectos visitantes forman una red de interacciones entre ellos y con las plantas estudiadas. Además, se encontró que las familias Scatopsidae y Sciaridae, pertenecientes al orden Diptera, son los insectos más abundantes y los que presentan mayor actividad en las flores de éstas especies.

Para la apomixis se colocaron bolsas de papel cera en inflorescencias de 24 individuos por especie. Posteriormente se colectaron las semillas formadas y se realizó un análisis de citometría de flujo, conjuntamente con las semillas colectadas de los tratamientos de bolsas

de organza y control. Dos plantas parentales fueron igualmente colectadas para determinar su nivel de ploidía. El análisis de citometría de flujo determinó que las especies estudiadas son predominantemente especies apomícticas, autónomas obligatorias. Adicionalmente, se encontraron, en menor cantidad, semillas pseudógamas en *Lachemilla hirta*, la presencia de embriones aneuploides en ambas especies, y embriones triploides en *Lachemilla hispidula*.

Estos resultados sugieren que las poblaciones de ambas especies son asexuales, y que los insectos encontrados en las mismas usan estas plantas únicamente como sitios de alimentación, protección y reproducción, donde rara vez podrían actuar como polinizadores accidentales.

Palabras clave: apomixis, biología reproductiva, citometría de flujo, Diptera, *Lachemilla*, páramo, ploidía, polinización.

2. ABSTRACT

Lachemilla is a genus consisting of 27 species distributed in the paramos and super-paramos of the Ecuadorian Andes. This genus is one of the most representative of the super-paramo flora, with about 11 species. Despite this high number of species, the reproductive biology of *Lachemilla* has not yet been studied.

In this thesis, pollination and apomixis were studied in two species of *Lachemilla*: *L. hirta* and *L. hispidula*. For the pollination assays, the inflorescences of 24 individuals of each species were covered with mesh bags, and 24 control individuals, were without coverage. The fruits formed in each treatment were counted and compared. In *Lachemilla hirta*, non significant differences were found between control and mesh bags treatments, while in *L. hispidula*, highly significant differences were found between treatments, where the control was the treatment with more fruit production. These results suggest that both species are apomictic.

The associated fauna species in *Lachemilla hirta* and *L. hispidula* was also studied. In direct observations and collections made, we found that different insects form a network of interactions among themselves and with the studied plants. In addition, we found that the Diptera families, Sciaridae and Scatopsidae, are the most abundant insects and those with greater activity in the flowers of these species.

For apomixis, wax paper bags were placed in inflorescences of 24 individuals per species. Seeds were collected and underwent a cytometry flow analysis, along with seeds collected from the mesh bags and control treatments. Two parent plants were also collected to determine their ploidy level. The flow cytometry analysis determined that *Lachemilla hirta* and *L. hispidula* are predominantly obligatory autonomous, apomictic species. Additionally, we found few seeds of *Lachemilla hirta* with pseudogamy, the presence of aneuploidy in embryos in both species, and triploid embryos in *Lachemilla hispidula*.

These results suggest that populations of both species are asexual, and that the insects found in these plants use them only for feeding, protection and reproduction, rarely acting as accidental pollinators.

Keywords: apomixis, Diptera, flow cytometry, *Lachemilla*, paramo, ploidy, pollination, reproductive biology.

3. INTRODUCCIÓN

Lachemilla es un género neotropical perteneciente a la familia Rosaceae. Se encuentra distribuido desde el sur de California hasta el norte de Argentina y Chile con alrededor de 80 especies (Gaviria, 1996; Romoleroux, 2004; Sklenář *et al.*, 2005; Gehrke *et al.*, 2008), siendo la región comprendida entre Venezuela y Ecuador la zona de más alta diversidad del género con 36 especies (Romoleroux, 2004). En el Ecuador *Lachemilla* consta de 27 especies, de las cuales seis son endémicas, y se distribuyen entre los 2000 y 5000 m.s.n.m. en la cordillera andina (Romoleroux, 1996; Jørgensen & León-Yáñez, 1999; Luteyn, 1999; Morales-Briones, 2009; Romoleroux & Morales-Briones, 2012).

Lachemilla históricamente ha sido tratada dentro del género *Alchemilla* por varios autores como Focke (1888), Lagerheim (1894) y Perry (1929). Sin embargo, Rydberg (1908) y Rothmaler (1937) ascienden a *Lachemilla* a nivel de género, debido a diferencias geográficas y morfológicas con *Alchemilla*. Actualmente existen discrepancias en la posición y relación de *Lachemilla* respecto a los clados hermanos, *Alchemilla* y *Aphanes*; Gaviria (1996) y Romoleroux (1996 & 2004) tratan a *Lachemilla* como un género distinto a los dos nombrados anteriormente, mientras que Gehrke *et al.* (2008), mantienen que para que exista congruencia en la filogenia es necesario tratar a *Alchemilla*, *Aphanes* y *Lachemilla* dentro de un mismo género, *Alchemilla*, ya que de esta forma se logra mantener un solo grupo monofilético. En esta tesis se trata a *Lachemilla* como un género.

Dentro de *Lachemilla* se han reconocido divisiones subgenéricas de acuerdo a características morfológicas compartidas entre las mismas. Perry (1929) reconoce 6 series y subseries, mientras, Rothmaler (1937), 6 secciones y 5 subsecciones. Ambos sistemas de clasificación coinciden en que el grupo más ancestral es *L. polylepis*; sin embargo, Perry explica que la especie más derivada es *L. diplophylla*, mientras que para Rothmaler es *L. aphanoides*.

3.1 DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO *Lachemilla* (Focke) Rydb.

Las plantas del género *Lachemilla* son hierbas o subarbustos, perennes o anuales, con ramas cespitosas, decumbentes, estoloníferas, reptantes o erectas. Todas las especies tienen algún tipo de pubescencia. Presentan estípulas que pueden estar connadas o adnadas al menos a la base del peciolo, de forma y textura variable. Las hojas pueden ser 3-partitas, de 3 a 11 lobadas, o reducidas formando verticilos; la lámina es lobada, pinnada, rara vez entera o con dos apéndices foliares a lo largo del nervio principal del lado abaxial de la hoja (Gaviria, 1996; Romoleroux, 1996, 2004).

Las inflorescencias pueden ser terminales, axilares o rara vez flores solitarias, dispuestas en cimas laxas o glomérulos. Las flores son bisexuales, actinomorfas, inconspicuas y bracteadas. Presentan 4 sépalos y 4 episépalos, que pueden ser reducidos o estar completamente ausentes, no tienen corola. El hipantio varía en forma desde turbinado a campanulado o urceolado, y puede presentar pubescencia en el interior. Poseen 2 estambres insertos al interior del disco, con anteras glabras. Tienen de 1 a 6 (raro 10) carpelos, 1 óvulo por carpelo, estilo basal y un estigma clavado, subclavado o capitado. El fruto es un aquenio encerrado en el hipantio con el pericarpo delgado, existen de 1 a 6 (raro 10) aquenios por flor (Gaviria, 1996; Romoleroux, 1996, 2004).

3.2 BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL GÉNERO *Lachemilla* (Focke) Rydb.

3.2.1 POLINIZACIÓN

La polinización es la transferencia de polen desde la antera hacia el estigma de un mismo o diferente individuo, que se puede llevar a cabo mediante la acción de factores abióticos, el agua o el viento, o factores bióticos, como animales (Judd *et al.*, 2008). En angiospermas el sistema predominante de polinización es el que se realiza mediante animales. Esta interacción ha sido muchas veces la responsable de la amplia diversidad

existente de especies de plantas y polinizadores, donde se puede destacar el caso de los higos, pertenecientes a la familia Moraceae, que presentan mutualismo exclusivo y co-evolución con las avispas de la familia Agaonidae. Esta asociación empezó en el Cretácico, hace alrededor de 75 millones de años, y ha provocado la radiación de más de 750 especies de higos y avispas (Judd *et al.*, 2008; Ollerton *et al.*, 2009; Cruaud *et al.*, 2012). La polinización por el viento o anemofilia, es el segundo sistema en importancia después de los animales, con el 10% de las especies de Angiospermas utilizando este sistema. Adicionalmente, se ha evidenciado que la anemofilia ha evolucionado por lo menos unas 65 veces a partir de ancestros cuya polinización era realizada por animales. (Friedman & Barrett, 2009).

Las plantas, dependiendo del sistema de polinización que usan, adquieren caracteres morfológicos florales que facilitan la atracción de polinizadores y/o la dispersión del polen (Anexo 1).

Dentro de Rosaceae se pueden encontrar géneros y especies polinizados por animales como la tribu Potentilleae con los géneros *Agrimonia*, *Aremonia*, *Chamaerhodos*, *Duchesnea*, *Fragaria*, *Hagenia*, *Horkelia*, *Ivesia*, *Potentilla*, *Sibbaldia*; el género *Rubus*, en la tribu Rubeae, la tribu Maloideae, con los géneros, *Amelanchier*, *Aronia*, *Cotoneaster*, *Crataegus*, *Malus* y *Sorbus* (Campbell *et al.*, 1991; Bolmgren *et al.*, 2003; Brown & McNeil, 2009), y la tribu Roseae, con el género *Rosa* (Gyan & Woodell, 1987a, 1987b) ; o plantas polinizadas por el viento como es el caso de la tribu Sanguisorbeae, con el género *Polylepis* (Domic *et al.*, 2013). También se han realizado estudios en *Alchemilla* y *Aphanes*, donde Bolmgren *et al.* (2003) han observado que éstos géneros posiblemente son polinizados bióticamente. En *Alchemilla vulgaris*, específicamente, Pont (1993) determinó que los dípteros de la familia Muscidae presentan actividad de alimentación, donde

realizan contacto con las anteras de esta especie. Sin embargo, no existe ningún trabajo publicado sobre polinización en *Lachemilla*.

3.2.2 APOMIXIS

La apomixis inicialmente fue definida como cualquier forma de reproducción asexual, es decir, se incluía en dicho término la reproducción asexual vegetativa, por medio de estolones o rizomas, y la reproducción que genera semillas asexuales, también conocida como agamosperma. Actualmente la apomixis se usa como un sinónimo de agamosperma (Hickey & King, 2000; Carneiro *et al.*, 2006; Hörandl *et al.*, 2008). La apomixis se define como la producción asexual de semillas a partir del tejido maternal del óvulo que da origen a un embrión, aún cuando se han eludido procesos de fertilización y meiosis (Matzk *et al.*, 2000; Richards, 2003; Bicknell & Koltunow, 2004).

La apomixis es un término usado para angiospermas y gimnospermas, ya que únicamente estos grupos poseen semillas, sin embargo este proceso parece estar ausente en el último grupo (Bicknell & Koltunow, 2004).

La apomixis es un evento que ocurre más comúnmente de lo que se pensaba en angiospermas, tanto en monocotiledóneas como dicotiledóneas (Matzk *et al.*, 2000). La prevalencia de este evento en angiospermas es bastante variable según varios autores; Bicknell & Koltunow (2004) explican su existencia en más de 400 taxa de plantas incluidas en más de 40 familias; Matzk (2007) documenta alrededor de 220 géneros apomícticos, y Carneiro *et al.* (2006), 35 familias entre las que se incluyen Asteraceae, Rosaceae, Poaceae, Orchidaceae y Liliaceae.

Los mecanismos de apomixis se basan en tres componentes de desarrollo de embriones y endospermo: i) la apomeiosis, cuando existe una célula capaz de formar un embrión sin recurrir a la meiosis, ii) partenogénesis, que es el desarrollo de embriones

independientemente de si existe fertilización, y iii) la capacidad de producir endospermos autónomamente o derivados de la fertilización (Bicknell & Koltunow, 2004).

Durante el proceso de reproducción sexual en plantas existe primero la formación de gametos, que posteriormente, tras el proceso de meiosis, reducen su número cromosómico, y por último ocurre la doble fertilización que da origen al embrión y endospermo. Durante la apomixis este proceso se altera, resultando en la formación de embriones esporofíticos o gametofíticos (Bicknell & Koltunow, 2004; Matzk, 2007).

La apomixis esporofítica, también conocida como embriones adventicios, origina embriones a partir de células del óvulo provenientes de la secuencia tardía de la maduración del óvulo. Mientras que la apomixis gametofítica forma embriones a partir de un saco embrionario no reducido. Dependiendo del tipo de célula que forma el saco no reducido, pueden existir dos procedimientos: la diplosporia, donde el saco no reducido se origina a partir de la célula madre de la megaspora (MMC), o la aposporia, donde éste se produce por medio de células somáticas del óvulo. En la apomixis gametofítica la formación del endospermo puede ser pseudógamo, cuando existe un incentivo de fertilización (i.e., cuando una célula del espermatozoides fertiliza a las células nucleares que originan el endospermo), o autónomo cuando éste se desarrolla espontáneamente (Anexo 2) (Bicknell & Koltunow, 2004; Carneiro *et al.*, 2006; Matzk, 2007).

La apomixis puede ser un evento obligatorio o facultativo, este último, ocurre simultáneamente con procesos sexuales (Matzk, 2007). Se ha observado que especies que son perennes, habitan en ecosistemas disturbados y presentan mecanismos de reproducción vegetativa, son más propensos a tener eventos apomícticos en su ciclo de vida (Bicknell & Koltunow, 2004). Las especies apomícticas se caracterizan por formar microespecies, es decir, poblaciones con variación morfológica, que muchas veces causan problemas para la

determinación taxonómica (Bicknell & Koltunow, 2004; Judd *et al.*, 2008; Pihu *et al.*, 2009).

En Rosaceae se han realizado varios estudios de apomixis, siendo esta familia conocida por poseer apomixis gametofítica, al igual que Asteraceae y Poaceae. Se ha estudiado ampliamente a los géneros *Potentilla*, *Sorbus*, *Amelanchier*, *Crataegus*, *Fragaria* y *Rubus* (Czapik, 1996; Bicknell & Koltunow, 2004; Matzk, 2007; Dobeš *et al.*, 2013). Los géneros hermanos de *Lachemilla*, *Alchemilla* y *Aphanes*, también han sido estudiados. *Alchemilla* se caracteriza por tener apomixis autónoma, mientras que *Aphanes*, pseudógama (Czapik, 1996; Gehrke *et al.*, 2008). *Lachemilla* tampoco ha sido estudiada para verificar si existe la presencia de apomixis.

3.3 OBJETIVOS

3.3.1 OBJETIVO GENERAL

- Documentar procesos de la biología reproductiva del género *Lachemilla* (Rosaceae).

3.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Documentar la existencia de polinización biótica y/o abiótica en las especies *Lachemilla hirta* y *L. hispidula* mediante tratamientos con fundas de organza y realización de placas de polen recolectados de insectos.
- Verificar la presencia de eventos de apomixis en *Lachemilla hirta* y *L. hispidula* a través de análisis de semillas con la técnica de citometría de flujo (FCSS).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDIO

La investigación se llevó a cabo en los páramos de Oyacachi, que se encuentran ubicados en la provincia del Napo, dentro del Parque Nacional Cayambe Coca, a aproximadamente 50 km de distancia al este de Quito (Cuesta *et al.*, 2003). Se escogieron dos poblaciones de *Lachemilla* que se encuentran cercanas una de la otra, a alrededor de 350 m de distancia del control de Oyacachi. La primera población corresponde a *L. hispidula* y está ubicada al borde de la carretera (S 0° 11' 4.6'' y W 78° 6' 10.3'') a 3858 m.s.n.m.; y la segunda corresponde a *L. hirta*, y está dentro del bosque (S 0° 11' 10.2'' y W 78° 6' 7.8'') a 3865 m.s.n.m.

4.1.1 GEOLOGÍA Y CLIMA

La zona del páramo de Oyacachi se caracteriza por formaciones geológicas de origen glacial, que incluyen rocas glaciares, valles en forma de U llenos de depósitos de morrenas, deslizamientos de tierra y lahares (Cuesta *et al.*, 2003).

La temperatura media anual está relacionada a la altitud. En el páramo, ésta varía entre 5 a 9 °C (Skov, 1997; Cuesta *et al.*, 2003). La temperatura media anual de una posición determinada, dentro de Oyacachi, se puede estimar mediante la siguiente ecuación:

$$T^{\circ} \text{ media anual} = 29.6^{\circ}\text{C} - (\text{altitud} * 0.006)$$

De esta forma la temperatura media anual para la población de *Lachemilla hispidula*, sería de 6.45°C; y para *L. hirta*, 6.41°C. En cuanto a la precipitación anual, también tiene una

correlación negativa respecto a la altitud. En el páramo la precipitación anual equivale a 1500 - 1700 mm. Una de las principales características de Oyacachi es que la precipitación puede ser de dos a tres veces mayor que la evapotranspiración, por lo que es una región que se mantiene bastante húmeda a lo largo de todo el año (Skov, 1997; Cuesta *et al.*, 2003). En la región existen dos estaciones, el invierno, entre los meses de enero a septiembre, y el verano, entre octubre a diciembre (com. pers. Miguel Ascanta).

4.1.2 VEGETACIÓN ASOCIADA

La población de *Lachemilla hirta* se ubica dentro del bosque. Aquí existe vegetación herbácea como *Lachemilla orbiculata* y *Gunnera magellanica*. Arbustos de *Valeriana microphylla*. Árboles de *Escallonia myrtilloides*, y por último, también está presente vegetación de pajonal como *Calamagrostis intermedia*, *Festuca* sp. y *Cortaderia nitida*.

La población de *Lachemilla hispidula* se ubica al borde de carretera. Entre la vegetación herbácea se encuentran especies como *Baccharis genistelloides*, *Dorobaea pimpinellifolia*, *Werneria nubigena*, *Lupinus pubescens*, *Gunnera magellanica*, *Bartsia laticrenata*, *Castilleja pumila*, *Lachemilla orbiculata*, *L. rupestris* y *L. uniflora*. La vegetación arbustiva es reducida en esta población, aquí se encuentran *Hypericum laricifolium* y *Disterigma empetrifolium*. El pajonal está constituido por *Carex pichichensis*, *Calamagrostis intermedia*, *Cortaderia nitida* y *Festuca* sp.

Los alrededores de las poblaciones en estudio son bastante húmedas. Aquí existen almohadillas formadas por *Azorella* sp. y *Azorella crenata*. Hierbas tales como *Werneria nubigena*, *Gunnera magellanica*, *Huperzia crassa*, *Bartsia laticrenata*, *Castilleja pumila*, *Lachemilla mandoniana* y *L. orbiculata*. Rosetas de *Puya hamata*. Arbustos como *Diplostephium rupestre* y *Valeriana microphylla*, y por último árboles de *Escallonia*

myrtilloides y *Polylepis pauta* (com. pers. Lic. Álvaro Pérez) (Romoleroux *et al.*, en preparación; Ståhl *et al.*, 1997; Cuesta *et al.*, 2003; Pillajo & Pillajo, 2011).

4.1.3 COMUNIDAD DE OYACACHI

Oyacachi (*Oya* = hondonada y *cachi* = sal) (com. pers. Fausto René Aigaje) es una comunidad Quichua, cuyo territorio, con alrededor de 63000 hectáreas, comprende un valle y los páramos adyacentes, con altitudes que varían desde los 1800 a 4000 m.s.n.m. La comunidad se encuentra dentro del Parque Nacional Cayambe Coca (Morales Males & Schejellerup, 1997; Cuesta *et al.*, 2003).

En el año 1906 la comunidad de Oyacachi recibió el título de propiedad. En 1938 fue reconocida legalmente, y en el 2006 El Codenpe (Consejo de Desarrollo de Nacionalidades y Pueblos del Ecuador) la registró como pueblo ancestral (Carrasco *et al.*, 2010).

En la actualidad la comunidad está conformada por 135 familias con alrededor de 630 personas (Carrasco *et al.*, 2010). La actividad productiva de la comunidad se divide en cuatro grupos. La principal es la ganadera, con el 92% de las familias dedicadas al cuidado del ganado. La actividad artesanal se encuentra en segundo lugar con el 59% de familias dedicadas a la elaboración de cucharas, bateas, adornos y muebles, a partir de madera de aliso, cedro y canelo (com. pers. Fausto René Aigaje y Dario Aigaje). Luego está el turismo comunitario, con el 29% de familias encargadas de promocionar atractivos como las ruinas arqueológicas de Maucallacta, las piscinas termales, el santuario de la Virgen, y caminatas por el sendero que comunica Oyacachi con el Chaco. Y por último la actividad piscícola, donde el 26% de familias se dedican a la crianza de truchas (Carrasco *et al.*, 2010).

4.1.4 DESCRIPCIÓN *Lachemilla hirta* (L.M. Perry) Rothm.

Las plantas de *Lachemilla hirta* son hierbas perennes, de tallos decumbentes, ramas un poco esparcidas, y con pubescencia hirsuta. Presentan estípulas, que se encuentran adnadas y connadas a la base del peciolo, pero libres hacia al ápice y de 3 a 4 lobadas, de textura foliar y color verde. Las hojas son 3 partitas, de textura cartácea y con los segmentos laterales profundamente bífidos, asemejando a una hoja 5 lobada, el margen es inciso-crenado. La superficie abaxial de las hojas es hirsuta-sericea esparcida, y el lado adaxial es viloso-hirsuto esparcido a glabro (Gaviria, 1996; Romoleroux, 1996).

Las inflorescencias son axilares o terminales, en cimas laxas, y con brácteas florales lobadas. Las flores miden entre 2.2 y 3.3 mm de longitud, con el hipantio campanulado cuyo exterior es seríceo-hirsuto y el interior tomentoso, son de color verde que cuando maduran se tornan rojizas. Los sépalos y episépalos son abaxialmente seríceo-hirsuto esparcidos y de superficie adaxial glabra. Los sépalos y episépalos son ovado-trianguulares, con el ápice acuminado, los sépalos miden 0.8-1.2 x 0.7-1 mm, y los episépalos, 1.2-1.8 x 0.5-0.8 mm. Presentan filamentos de 0.5 mm de longitud. El polen es 3-colporado, mide $\approx 27.2 \times 27.61$ μm desde la vista polar, y $\approx 23 \times 17.34$ μm desde la vista ecuatorial (base de datos del Laboratorio de Paleobotánica – Herbario QCA). Tienen de 3 a 6 carpelos y un estigma globoso (Figura 1 y Figura 2) (Gaviria, 1996; Romoleroux, 1996).

4.1.5 DESCRIPCIÓN *Lachemilla hispidula* (L.M. Perry) Rothm.

Las plantas de *Lachemilla hispidula* son hierbas de tallos erectos o decumbentes, ramificados en el ápice, y con pubescencia hispida. Tienen estípulas basales usualmente caducas, aunque si es que están presentes, éstas se encuentran adnadas a la base del peciolo, pero libres y bífidas hacia el ápice, son amplexicaules, de textura membranosa y de color café. Las hojas basales suelen ser igualmente caducas, si es que están presentes

son 3 lobadas. Las hojas distales son reducidas, adnadas y connadas a las estípulas distales, formando verticilos 10-13 lobados, de forma linear-lanceolada, textura cartácea y margen revoluto. La superficie abaxial de las hojas es hirsuta-villosa, y la adaxial, hirsuta-villosa esparcida o villosa adpreso (Romoleroux, 1996).

Las inflorescencias son axilares o terminales, en cimas glomeruladas. Tienen brácteas florales que son lobadas, ascendentes y de pubescencia pilosa esparcida. Las flores miden entre 1.8 a 2.5 mm de longitud, tienen un hipantio globoso-campanulado, cuyo exterior es glabro o piloso-hirsuto adpreso, y el interior glabro, son de color verde que cuando maduran se tornan café-rojizas. Los sépalos y episépalos son abaxialmente piloso-hirsutos, y de lado adaxial glabro. Los sépalos son de forma ovado-triangulares, de 0.7-0.9 x 0.4-0.6 mm y el ápice agudo, y los episépalos son de forma estrechamente ovados, de 0.5-0.8 x 0.2-0.4 mm y el ápice acuminado. Presentan filamentos de 0.3 mm de longitud. El polen es 3-colporado, mide $\approx 25.74 \times 24.98$ μm desde la vista polar, y $\approx 26.88 \times 21.87$ μm desde la vista ecuatorial (base de datos del Laboratorio de Paleobotánica – Herbario QCA). Poseen de 2 a 5 carpelos con estigma clavado (Figura 3 y Figura 4) (Romoleroux, 1996).

Se seleccionaron las especies *Lachemilla hirta* y *Lachemilla hispidula* ya que éstas se ubican en diferentes secciones dentro de las divisiones subgenéricas de *Lachemilla*, lo que permitió obtener una visión más amplia de la biología reproductiva del género.

4.2 BIOLOGÍA REPRODUCTIVA

De acuerdo a Rothmaler (1937), las especies estudiadas se encuentran ubicadas en dos secciones diferentes. *Lachemilla hirta* se ubica dentro de la sección Procumbentes, mientras que *Lachemilla hispidula* se encuentra en la sección Aphanoides, subsección Nivales.

El género *Lachemilla* comprende especies que se encuentran en continua floración según las observaciones realizadas por la Dra. Katya Romoleroux y el Lic. Diego Morales durante el proyecto PUCE E-G 13049 durante los años 2008 y 2009, por lo cual únicamente se optó por hacer observaciones para corroborar esta información. En el año 2012 se realizó una observación mensual durante febrero, marzo, mayo, junio, y septiembre; y dos veces cada mes en julio, agosto y octubre del 2012. En el año 2013 se realizaron dos observaciones mensuales en mayo, junio, julio, agosto y septiembre.

Se colocó un sensor de temperatura iButton® a 10 cm. de profundidad en el suelo, para conocer su temperatura. Éste fue colocado únicamente en la población de *Lachemilla hirta*, ya que al encontrarse dentro del bosque no existe ningún riesgo de que el ganado o turistas dañen o extraigan el sensor. Adicionalmente, se solicitó la información meteorológica mensual desde el año 2003 hasta el 2012 al Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), de la estación de Papallacta, ubicada en las coordenadas S 0° 21' 54'' W 78° 8' 41'' a 3150 m.s.n.m.

En el caso de la especie *Lachemilla hispidula*, cada planta fue protegida con malla de acero, para evitar daños en los tratamientos a causa del ganado o turistas (Figura 5).

4.2.1 POLINIZACIÓN

Se escogieron 24 individuos de cada especie y se seleccionó una inflorescencia de cada una, a la cual se le colocó un tratamiento de bolsa de organza (Figura 6). Este tratamiento fue usado para determinar la existencia o ausencia de anemofilia, ya que la bolsa tiene poros lo suficientemente pequeños para evitar la entrada de insectos pero permitir la entrada y salida del polen. Las inflorescencias seleccionadas fueron encerradas cuando las flores estaban en botones, para descartar posibles eventos de polinización previa por parte de insectos (Arroyo *et al.*, 1982; Pendleton & Pendleton, 1998; Sakai, 2001; Pías & Guitián, 2006; Fagua & Gonzalez, 2007). Las flores formadas dentro de las bolsas de

organza fueron colectadas para posteriormente, en el laboratorio, diseccionarlas bajo un estereoscopio y contabilizar los frutos formados. Éstos fueron comparados con los frutos formados en 24 inflorescencias del tratamiento control, que no poseen cobertura (Pendleton & Pendleton, 1998). En *Lachemilla hirta* se realizó este experimento durante el verano y el invierno, mientras que en *L. hispidula* únicamente se lo realizó durante el invierno debido a las dificultades de preservar los tratamientos intactos el tiempo necesario para que exista la formación de frutos. Con el número de frutos obtenidos se realizó un Anova de un factor para obtener la media de formación de frutos en ambos tratamientos y la prueba de Mann-Whitney para determinar si existen diferencias entre los mismos. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa IBM SPSS Statistics 18.

Se colocaron trampas pegantes de 5x5 cm, que fueron armadas con plástico amarillo y pegamento bio-tac, cerca a cada individuo de las dos especies de estudio al nivel del suelo, con el objetivo de conocer la composición de la entomofauna (Sakai, 2001). En *Lachemilla hirta* y *L. hispidula* se colocaron 25 trampas pegantes por población en el mes de Septiembre del 2012 (Figura 7).

Se realizaron observaciones directas, diurnas y nocturnas, por 20 horas distribuidas en 23 días en total, durante el invierno y verano, a las flores de cada especie, para obtener información sobre la actividad de los insectos. Durante 10 minutos se observaba los insectos que visitaban las flores, y 10 minutos eran usados para recolectar los insectos que se posaban sobre éstas, por medio de una aspiradora, pinzas y pincel. Los insectos colectados eran conservados en alcohol al 70%, y en el laboratorio se realizó la identificación, hasta el nivel de orden, familia y subfamilia (Arroyo *et al.*, 1982; Herrera, 1988; Sakai, 2001; Blanco & Barboza, 2005; Triplehorn & Johnson, 2005; Hanson & Gauld, 2006; Etcheverry *et al.*, 2008; Ellis & Johnson, 2009; Ollerton *et al.*, 2009).

Se realizaron placas de polen de los insectos previamente colectados. Para realizar las placas, se precipitó las muestras de insectos preservadas en alcohol al 70% durante un día, posteriormente, se colocó un poco de precipitado en un porta-objetos y sobre éste glicerina sólida, y se colocó el porta-objetos bajo el fuego hasta que la glicerina se haya tornado líquida. Con un palillo de dientes se mezcló la muestra con la glicerina líquida, se la ubicó nuevamente bajo el fuego sin dejar que se evapore completamente, y finalmente se colocó el cubre-objetos (com. pers. Lic. Andrea Villota, 2013) (Wodehouse, 1933). Se observaron las placas bajo un microscopio y se comparó el polen obtenido de las muestras con las fotografías del polen de las especies *Lachemilla hispidula*, *L. jamesonii*, *L. nivalis*, *L. orbiculata* y *L. vulcanica* que fueron proporcionadas por la Msc. Susana León-Yáñez, directora del Laboratorio de Paleobotánica de la PUCE.

Debido a que la mayoría de insectos fueron colectados en un mismo frasco la clasificación de visitantes, parasitoides e hiperparasitoides, se la realizó por medio de la información obtenida en la literatura (Gärdenfors, 1990; Triplehorn & Johnson, 2005; Hanson & Gauld, 2006; Miko & Deans, 2009; Ollerton *et al.*, 2009).

4.2.2 APOMIXIS

Se seleccionaron 24 inflorescencias, una por individuo, por especie estudiada, a las cuales se las cubrió con bolsas de papel cera, cuando las flores estaban en botones (Figura 8). El procedimiento de recubrimiento garantiza que exista igual ploidía en la planta madre y la donadora de polen. Las bolsas fueron retiradas cuando las flores presentaban frutos maduros, es decir, a alrededor de 2 a 6 meses de haber sido colocadas las bolsas (agosto 2013 – enero 2014). Se colectaron las flores, y en el laboratorio, se las diseccionó para extraer las semillas. Se obtuvieron ≈ 0 a 70 semillas por planta en ambas especies, que se las dejaron secar (Matzk *et al.*, 2000; Heenan *et al.*, 2003; Schranz *et al.*, 2005; Hörandl *et*

al., 2011; Dobeš *et al.*, 2013). Las semillas de los tratamientos control y organza fueron igualmente usadas para el análisis de citometría de flujo.

Adicionalmente se colectaron dos plantas enteras por especie, para conocer el nivel de ploidía de las plantas parentales (Schranz *et al.*, 2005; Suda *et al.*, 2007; Dobeš *et al.*, 2013). Un duplicado de cada especie colectada fue depositada en el Herbario QCA.

Otro duplicado fue enviado a Praga en República Checa, al Departamento de Botánica de la Universidad Charles, donde El Dr. Filip Kolář y su colega Dr. Tomas Urfus, realizaron los análisis de citometría de flujo de semillas (FCSS).

5. RESULTADOS

Las especies estudiadas de *Lachemilla* se encuentran en constante floración y fructificación a lo largo del año, dato que fue corroborado por las observaciones de la Dra. Katya Romoleroux y el Lic. Diego Morales durante el proyecto PUCE E-G 13049.

5.1 POLINIZACIÓN

5.1.1 ENTOMOFAUNA DEL PÁRAMO DE OYACACHI

Las trampas pegantes fueron analizadas en el laboratorio, donde se categorizó a los insectos hasta nivel de orden debido a la dificultad de observar todas las características morfológicas necesarias para realizar una clasificación más precisa de los grupos colectados en las trampas (Figura 7).

La entomofauna del área de estudio, en el caso de *Lachemilla hirta*, está compuesta principalmente por el orden Diptera, que contenía el mayor porcentaje de individuos en las placas analizadas, con el 86,07%. El segundo orden con mayor número de individuos es Hymenoptera con el 6,20%. Los órdenes Acari, con el 2,19% y Collembola, con el 2,04%, corresponden a los siguientes órdenes con mayor porcentaje de individuos contabilizados. Por último, los órdenes restantes se encontraron en porcentajes iguales o menores al 1%, y pertenecen a Araneae (0,95%), Orthoptera (0,07%), Coleoptera (0,51%), Hemiptera (1,02%), Thysanoptera (0,07%), Lepidoptera (0,73%) y órdenes no identificados (0,15%) (Figura 9).

La composición de la entomofauna del área de estudio de la población de *Lachemilla hispidula* fue similar a la obtenida en *L. hirta*, donde el orden Diptera fue el que mayor porcentaje de individuos contenía en las placas analizadas, con el 89,12%. El orden Hymenoptera, con el 5,20%, fue el segundo con mayor cantidad de individuos

contabilizados. Por último, a excepción del orden Collembola que alcanzó el 2,79% de abundancia de individuos, los restantes órdenes son poco abundantes alcanzando únicamente porcentajes iguales o menores al 1%, donde se encuentra Araneae (1%), Acari (0,32%), Orthoptera (0,16%), Hemiptera (0,21%), Thysanoptera (0,26%), Coleoptera (0,11%), Lepidoptera (0,74%) y órdenes no identificados (0,11%) (Figura 10).

5.1.2 FORMACIÓN DE FRUTOS

En la época de invierno en *Lachemilla hirta* se contabilizaron un total de 314 flores del tratamiento de bolsas de organza y 315 flores del tratamiento control. Cada flor de *L. hirta* produce de 0 a 3 frutos, siendo la media de formación de frutos en el tratamiento de bolsas de organza $\bar{X} = 0,82$, y la media en el tratamiento control $\bar{X} = 0,72$ (Tabla 1). La prueba de Mann-Whitney determinó que no existen diferencias significativas en la formación de frutos entre tratamientos ($P > 0,05$) (Tabla 2). Durante el verano se contabilizaron 128 flores del tratamiento de bolsas de organza, y 128 en el control. Cada flor produce de 0 a 3 frutos, siendo la media de formación de frutos en el tratamiento de bolsas de organza $\bar{X} = 0,85$, y la media en el control de $\bar{X} = 0,71$ (Tabla 3). La prueba de Mann Whitney determinó que no existen diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0,05$) (Tabla 4). En *Lachemilla hirta* adicionalmente se observó la existencia de frutos poco o no desarrollados.

En *Lachemilla hispidula* se analizaron 213 flores de cada tratamiento. En cada flor de *L. hispidula* se encontró entre 1 a 4 frutos, siendo la media de formación de frutos en el tratamiento de bolsas de organza $\bar{X} = 1,90$, y la media en el tratamiento control $\bar{X} = 2,30$ (Tabla 5). La prueba de Mann-Whitney determinó que si existen diferencias altamente significativas en la formación de frutos entre tratamientos ($P < 0,01$) (Tabla 6). En *L. hispidula* únicamente se realizó el análisis durante la época de invierno debido a la

dificultad de mantener los tratamientos en buen estado e intactos el tiempo necesario para poder coleccionar las flores debido a causas antrópicas.

5.1.3 VISITADORES, PARASITOIDES E HIPERPARASITOIDES

Se realizaron 12 colecciones de insectos en cada especie de *Lachemilla* estudiada. Las determinaciones de los insectos colectados se realizaron en el laboratorio, donde se llegó a nivel de orden, familia y en pocos casos a subfamilia. Al igual que en las trampas pegantes, el grupo predominante de insectos colectados corresponde al orden Diptera, seguido de Hymenoptera.

Mediante bibliografía, los insectos colectados fueron clasificados en visitantes, parasitoides e hiperparasitoides; de esta manera se determinó la red de interacciones entre los mismos y con las plantas estudiadas (Tabla 7 y Tabla 8) (Triplehorn & Johnson, 2005; Hanson & Gauld, 2006).

Los grupos de dípteros que corresponden a Scatopsidae, que se caracteriza por agruparse en grandes números en las flores de *Lachemilla hirta*, *L. hispidula* y en otras especies de plantas, durante la época de verano (Figura 11); y Sciaridae (Diptera), que se la encuentra a lo largo de todo el año (Tabla 7 y Tabla 8), fueron encontrados siempre en mayor proporción con respecto a otras familias de dípteros colectadas. Los Scatopsidae y Sciaridae durante las observaciones realizadas en el campo, se vio que poseen comportamientos diferentes de forrajeo. Los escatópsidos se caracterizan por agregarse en las inflorescencias durante tiempos prolongados, donde visitan flores de una misma o diferente inflorescencia. Mientras que los siáridos poseen un comportamiento más activo, visitando varias flores de la misma o diferente inflorescencia de varias plantas durante un tiempo más corto. En ambos casos los insectos fueron vistos chupando el disco floral,

cuando éste presentaba un color verde, en *Lachemilla hirta*, o verde con rosado, en *L. hispidula*. Las flores que se tornaban a color rojo eran evadidas por los insectos.

En las placas de polen, obtenidas de los insectos colectados, se encontró polen de *Lachemilla hirta* (Figura 12) y *L. hispidula* (Figura 13), y de otras familias de plantas, entre las que se incluyen Bromeliaceae (*Puya* sp.) y Poaceae, y el complejo Moraceae/Urticaceae (Figura 14).

En cuanto a la actividad de los insectos, se observó que existe una estrecha relación con la temperatura. Durante este estudio, se registró que existe una mayor actividad y abundancia de insectos durante octubre y noviembre, que corresponden a los meses de verano, con excepción de dos picos anómalos de abundancia durante mayo del 2012 y junio del 2013 (Figura 15, Figura 16 y Figura 17). En cuanto a cambios de temperatura a lo largo del día, se determinó que los insectos son más activos entre las 10h30 y 12h30 (Figura 18). En la noche no se registró ninguna actividad de insectos en las poblaciones de estudio.

En *Lachemilla hispidula* siempre se registró menor actividad y abundancia de insectos a lo largo de toda la investigación, con excepción de los escatópsidos.

5.2 APOMIXIS

Se observó que el tratamiento de recubrimiento de las inflorescencias con papel cera causa un retraso en la formación de los frutos y semillas en *Lachemilla hirta*.

De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis estadísticos de polinización de *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*, se decidió incluir también las semillas obtenidas de los tratamientos de bolsas de organza y control de cada especie.

En *Lachemilla hirta*, se analizaron 46 semillas, de las cuales 17 no presentaron resultados (Tabla 9), debido a que en algunos casos las semillas estaban muertas o no desarrolladas, o

en otros, únicamente se pudo obtener el nivel de ploidía del embrión pero no del endospermo. Únicamente aquellas semillas donde se detectó la ploidía tanto del embrión y del endospermo fueron tomadas en cuenta para clasificarlas como apomíticas o no. El sistema predominante de reproducción en *L. hirta* fue la apomixis autónoma, donde 19 semillas presentaron esta vía reproductiva (Tabla 9 y Figura 19). Adicionalmente, se encontraron 3 semillas pseudógamas (HIROR-13(2) e HIR-CON2(3)) (Tabla 9 y Figura 20). En esta población únicamente se encontró embriones diploides (HIR-2, HIR-24, HIR-OR(4) HIROR-3. HIROR-12, HIROR 13(1), HIROR-18, HIR-CON2(1), (4) y (5)) y 7 aneuploides (HIR-OR(2) y (3) e HIROR-6) (Tabla 9).

En *Lachemilla hispidula*, se realizó la citometría de flujo a 40 semillas, 24 de las cuales no tuvieron resultados (Tabla 10); y, al igual que en *L. hirta*, la apomixis autónoma fue el mecanismo reproductivo más predominante (Tabla 10 y Figura 21). Esta población contiene individuos con distintos niveles de ploidía, coexistiendo plantas diploides (HISPI-18(1), HISPI-20, HISPI-OR(3), (4) y (7) e HISPI-CON(3)), como también triploides (HISPI-14 e HISPI-OR(5)) (Tabla 10 y Figura 22), y se incluyen también 2 semillas aneuploides (HISPI-CON(1)) (Tabla 10).

Mediante los niveles de plodía encontrados en los embriones y endospermo de las semillas analizadas de *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*, se reconstruyó las vías apomíticas, según la información proporcionada por Matzk *et al.* (2000) y Matzk (2007) (Tabla 11, Figura 19, Figura 20 y Figura 21).

Según estos análisis, las especies de *Lachemilla* estudiadas son apomíticas, donde la mayoría de individuos, en *Lachemilla hirta*, y *Lachemilla hispidula*, son autónomos obligatorios, con un porcentaje del 92% de presencia de este mecanismo en ambas especies (Tabla 11 y Figura 23). En pocas excepciones, en individuos de *Lachemilla hirta*, el viento o la actividad accidental de los insectos pudo haber influenciado al apareamiento de

sexualidad, para la formación del endospermo por medio de la apomixis pseudógama, donde únicamente el 8% de semillas fueron originadas mediante esta apomixis (Tabla 11 y Figura 23).

6. DISCUSIÓN

6.1 POLINIZACIÓN

6.1.1 ENTOMOFAUNA DEL PÁRAMO DE OYACACHI

Se ha sugerido que existe una similar composición de taxa en sitios que presentan condiciones climáticas equivalentes, sin embargo, la estructura interna de estos grupos sí puede variar entre localidades (Arroyo *et al.*, 1982; Barrientos & Monge-Nájera, 1995). Durante este estudio se observó la presencia de este patrón en cuanto a la composición de órdenes de la entomofauna en ambas poblaciones de estudio (Figura 9 y Figura 10), donde existe una alta abundancia de dípteros seguido de los micro himenópteros, similar a lo registrado por Barrientos & Monge-Nájera (1995) en el Cerro Chirripó, Costa Rica.

La composición de la flora también es un determinante para la existencia de ciertos insectos en un área determinada. De esta manera, sitios donde es común encontrar pajonal y almohadillas, proveen microclimas relativamente uniformes al nivel del suelo que pudieron haber favorecido a la homogeneidad de presencia de los órdenes registrados en este estudio (Smithers & Atkins, 2001).

En cuanto al porcentaje de composición de los órdenes restantes, estos no siguen el patrón del obtenido por Barrientos & Monge-Nájera (1995), donde Lepidoptera y Coleoptera presentan una alta abundancia. En los datos obtenidos de este estudio se observa que en *Lachemilla hirta*, Collembola y Acari presentan los porcentajes más altos después de Diptera e Hymenoptera (Figura 9), mientras que para *L. hispidula*, Collembola es el siguiente grupo (Figura 10); este resultado puede estar asociado al hecho de que estos insectos son detritívoros, y que en el área de estudio exista bastante materia orgánica en descomposición, además del hecho de que las trampas estaban localizadas al nivel del suelo (Barrientos & Monge-Nájera, 1995; Oxbrough & Ramsay, 2001).

Por último, los porcentajes de composición de la entomofauna obtenidos, también pueden ser un reflejo del método de colección. Se ha evidenciado que los colores usados en las trampas pegantes, en este caso de color amarillo, pueden sesgar los resultados reales de composición en una localidad (Hoback *et al.*, 1999; Campbell & Hanula, 2007). Los insectos visitan determinados colores dependiendo de su capacidad de visualización de las longitudes de onda de los mismos y usualmente responden a los colores asociados a las recompensas florales de néctar y/o polen. Así, los dípteros en su mayoría, son característicos por preferir los colores amarillos, rosados o blancos; los himenópteros, el color azul; las lepidópteros presentan un rango visual amplio, sin embargo, presentan una preferencia hacia el color azul; y los coleópteros, dependiendo de la familia a la que pertenezcan, tienen diferentes respuestas hacia los colores. Los escarabajos colectados en las trampas pudieron ser aquellos buscadores de follaje (Campbell & Hanula, 2007). Hoback *et al.* (1999) por otro lado, explican que los grupos Aphelinidae, Braconidae Encyrtidae Eulophidae y Mymaridae, pertenecientes al orden Hymenoptera, tienen una preferencia hacia el amarillo, y los eulópidos hacia el color verde; los Cicadellidae son atraídos por los colores amarillos, rojos y naranjas; mientras Thysanoptera hacia el color azul.

6.1.2 FORMACIÓN DE FRUTOS

La especie *Lachemilla hirta* sometida al tratamiento de bolsa de organza, no tuvo diferencias significativas en cuanto a la producción de frutos con respecto al tratamiento control, tanto en invierno como verano (Tabla 2 y Tabla 4). En *L. hispidula* se obtuvieron diferencias altamente significativas entre tratamientos, siendo el control el que mayor producción de frutos tiene en comparación con las bolsas de organza (Tabla 6). Estos tratamientos permiten determinar el tipo de polinización presente en una planta, es decir, si

existe producción de frutos en el tratamiento de bolsa de organza, cuando se excluye totalmente la actividad de los insectos, se asume que las plantas son polinizadas por el viento. En cambio, si existe formación de frutos en el tratamiento control significa que las plantas son polinizadas por animales (Pendleton & Pendleton, 1998; Sakai, 2001, 2002). Cabe recalcar que en los resultados obtenidos siempre existió la formación de frutos, tanto en el tratamiento de bolsas de organza, como en el control (Tabla 1, Tabla 3 y Tabla 5), por lo tanto, estos resultados obtenidos en la formación de frutos sugieren que ambas especies son apomícticas (Tabla 9 y Tabla 10).

La diferencia en la cantidad de frutos formados entre individuos y poblaciones de *Lachemilla hirta* y *L. hispidula* está en función de la reserva de nutrientes y la capacidad de recuperación desde la última fructificación de cada individuo de cada especie estudiada (Stephenson, 1981; Pendleton & Pendleton, 1998).

En *Lachemilla hirta* se evidenció la formación de pocos frutos, una alta frecuencia de flores que no producían frutos y la existencia de frutos poco o no desarrollados. La formación de frutos y semillas depende de varios factores como la cantidad de flores femeninas y óvulos presentes, la cantidad de flores polinizadas y óvulos fertilizados, la depredación de los frutos y semillas, factores abióticos como el clima, y la capacidad de las plantas parentales de brindar los recursos necesarios para el desarrollo de los frutos y semillas (Stephenson, 1981). Cuando existe la formación de frutos dañados y/o inviables las plantas abortan a los mismos ya que es innecesario invertir en frutos que contienen semillas que no van a aportar para futuras generaciones, e inician la formación de nuevos frutos si es que los recursos disponibles son suficientes; cabe destacar que los frutos jóvenes son los más propensos a sufrir daños (Stephenson, 1981). Cuando existen recursos limitados se da una relación inversa en cuanto a los frutos que inician el desarrollo y los que culminan debido a la competencia entre los mismos, usualmente este patrón de abortos

es visible en plantas con inflorescencias acropétalas (Stephenson, 1981). *Lachemilla hirta* no posee inflorescencias acropétalas, éstas se encuentran dispuestas en cimas. Por lo tanto, una de las razones por las que esta especie tuvo poca producción de frutos y frutos poco desarrollados, podría deberse a que, en comparación a las inflorescencias de *L. hispidula*, éstas se encuentran más alejadas de la fuente de nutrición, por tener pedicelos largos. Otra de las razones es que al ser especies apomícticas generan embriones inviables a causa de la aneuploidía, que se encontró en mayor proporción en la población de *L. hirta* (Ver HIR-OR (2), HIR-OR (3) e HIROR-6 en la Tabla 9, e HISPI-CON (1) en la Tabla 10). Las plantas aneuploides son menos vigorosas que las euploides (Wet & Borgaonkar, 1963).

6.1.3 VISITADORES, PARASITOIDES E HIPERPARASITOIDES

Al ser animales ectotérmicos, los procesos fisiológicos y actividades de los insectos dependen estrechamente de las condiciones ambientales (Triplehorn & Johnson, 2005). Esto explica el pico de actividad observado en este estudio durante los meses de octubre y noviembre, que corresponden al verano (Figura 17). Los dos picos altos, anómalos, durante mayo del 2012 y junio del 2013 (Figura 17), se debe a que existieron días con condiciones climáticas buenas que permitieron coleccionar bastantes insectos.

De igual forma se registró el pico de actividad durante las 10h30 am y 12h30 pm (Figura 18), cuando las condiciones climáticas eran más favorables. Este dato se corrobora con la investigación de Pont (1993), en los Muscidae en el Parque Nacional Abisko, Suecia. Durante las horas en las que el clima es poco propicio para los insectos, éstos poseen un comportamiento de evasión y protección como adaptación de supervivencia, y utilizan el suelo o la vegetación como guarida ya que aquí la temperatura es de 4 a 10 °C más alta que en el medio externo (Pont, 1993; Smithers & Atkins, 2001; Smithers *et al.*, 2001; Triplehorn & Johnson, 2005). En *Lachemilla hispidula* se observó una menor

actividad de insectos y hubo una colección más pequeña de los mismos con respecto a *L. hirta* (Figura 17 y Figura 18), esto pudo deberse a las condiciones climáticas a las que está sometida esta población, pues al estar situada en el borde de carretera no hay mucha vegetación arbustiva que le sirva de protección contra el viento y el frío.

En las colecciones realizadas de *Lachemilla hirta* y *L. hispidula* se obtuvo el mismo resultado respecto a la composición de órdenes de insectos, es decir, que el grupo Diptera fue el predominante, seguido de Hymenoptera. Sin embargo, como ya se dijo anteriormente, la composición de los géneros dentro de los mismos si varían debido a que cambios en la composición de la flora conducen a cambios en la composición de la entomofauna de acuerdo a los requerimientos nutricionales y de protección que tengan los mismos (Smithers & Atkins, 2001). Cambios en otros factores abióticos, como el agua pueden también modificar la composición interna de los grupos. Tal es el caso de Chironomidae (Diptera), que únicamente fue colectado en *Lachemilla hispidula*, ya que hay una laguna cerca y ésta es necesaria para completar su ciclo de vida porque sus larvas crecen en cuerpos de agua (Tabla 8) (Grey *et al.*, 2004; Triplehorn & Johnson, 2005).

En las colecciones obtenidas también se observó que existe una red de interacciones en las plantas estudiadas, donde co-existen animales detritívoros, como ácaros y colémbolos, dípteros visitantes de flores, larvas de moscas y escarabajos que se alimentan del follaje, arañas y larvas de insectos predadores como los neurópteros, micro avispas parasitoides y micro avispas hiperparasitoides (Tabla 7 y Tabla 8). Las plantas existentes en un área atraen ciertos animales dependiendo de los recursos que estas provean y las necesidades nutricionales de los mismos, por lo tanto, la abundancia de cierto grupo de insectos puede servir de medida de la importancia de éste en la red de interacciones (Dupont *et al.*, 2003). En este caso, el orden Diptera que es el más abundante en composición en el área de estudio, corresponde al segundo grupo en importancia de insectos visitantes y

polinizadores, después de Hymenoptera a nivel mundial (Kevan & Baker, 1983; Larson *et al.*, 2001; Campbell & Hanula, 2007; Ssymank *et al.*, 2008).

Además, los Diptera son el grupo principal de visitantes y polinizadores en altitudes y latitudes altas debido a su mayor plasticidad de adaptación a condiciones climáticas duras (baja temperatura, mucha precipitación y el viento), menor dependencia a recompensas florales y mayor tiempo de forrajeo en las flores, ya que no tienen que alimentar a una progenie como en el caso de los himenópteros (Arroyo *et al.*, 1982; Kevan & Baker, 1983; Pont, 1993; Dupont *et al.*, 2003; Ssymank *et al.*, 2008). Pese a esto, durante mucho tiempo se ha restado importancia al papel ecológico que cumplen las moscas. En este caso, al no ser polinizadores de *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*, su importancia radica en que son la principal fuente de alimento para varios predadores y parasitoides presentes en las especies *L. hirta* y *L. hispidula* (Kevan & Baker, 1983; Triplehorn & Johnson, 2005; Hanson & Gauld, 2006).

Los dípteros e insectos en general, suelen visitar las flores por dos razones, la primera está relacionada a la comida ya que el néctar les provee energía, y el polen, proteínas; y la segunda, porque es un buen lugar para la reproducción, ovoposición y protección contra el clima y depredadores (Larson *et al.*, 2001; Sakai, 2002; Ssymank *et al.*, 2008). En este estudio no se comprobó la existencia de néctar en las especies estudiadas de *Lachemilla* pero sí existe información del género hermano *Alchemilla*, donde la especie *A. vulgaris*, es visitada por múscidos que se alimentan de su néctar (Pont, 1993); mientras que los principales dípteros visitantes de *Lachemilla*, escatópsidos y siáridos, son nectarófagos (Larson *et al.*, 2001). También se observó que los escatópsidos usan las hojas de *L. hispidula*, como protección contra la lluvia, el frío y el viento.

Los insectos colectados siempre fueron observados posados sobre las flores de color verde, en el caso de *Lachemilla hirta*, y verde con rosado, en *L. hispidula*. En un estudio realizado

en mariposas este cambio de color de las flores está asociado a dar dirección a los polinizadores hacia flores que no están polinizadas, siendo el rojo un color de evasión (Campbell & Hanula, 2007). Como ya se mencionó antes, las especies de *Lachemilla* estudiadas son casi en su totalidad apomícticas autónomas (se excluyen dos casos de pseudogamia en HIROR-13(2) e HIR-CON2 (3) en Tabla 9 y Figura 23), por lo tanto no requieren de ningún tipo de polinización (Matzk *et al.*, 2000; Vinkenoog & Scott, 2001; Richards, 2003; Bicknell & Koltunow, 2004; Ozias-Akins & van Dijk, 2007; Dobeš *et al.*, 2013). Así, se puede plantear la hipótesis de que este cambio de coloración de las flores puede ser producto de un rezago evolutivo de sexualidad, ya que también se ha observado que las especies más especializadas de este género en el Ecuador, *L. mandoniana* y *L. diplophylla* presentan una reducción o ausencia de algunas de las partes del perianto (Romoleroux, 1996, 2004).

En las placas de polen analizadas se observó también polen de las familias Bromeliaceae (*Puya* sp.) y Poaceae, y del complejo Moraceae/Urticaceae (Figura 14). Esto se corrobora con las observaciones de especímenes de Scatopsidae, que fueron vistos forrajeando otras especies de plantas.

6.2 APOMIXIS

El análisis de citometría de flujo aplicado a las semillas de *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*, indican que éstas (de aquellas donde se pudieron obtener resultados) en su mayoría son apomícticas autónomas obligatorias (Tabla 9, Tabla 10, Tabla 11, Figura 19, Figura 21 y Figura 23), y únicamente tres semillas analizadas fueron pseudógamas (Tabla 9, Tabla 10, Tabla 11, Figura 20 y Figura 23). En la apomixis autónoma se obtuvo una proporción de 2:4, embrión y endospermo respectivamente (Figura 19 y Figura 21), lo que significa que para la formación de embrión actuó un gameto femenino no reducido ($2n$) y para el

endospermo, las dos células nucleares femeninas también no reducidas ($4n$) (Tabla 11). En este caso de apomixis no se requiere la intervención de células masculinas (Matzk *et al.*, 2000; Vinkenoog & Scott, 2001; Heenan *et al.*, 2003; Matzk, 2007). Este mecanismo apomíctico también ha sido registrado en el género hermano de *Lachemilla*, *Alchemilla* (Matzk *et al.*, 2000; Gehrke *et al.*, 2008). La apomixis autónoma está relacionada a la diplosporia (Anexo 2) (Czapik, 1996).

En los pocos casos de apomixis pseudógama, donde existe una proporción embrión endospermo de 2:6 (Figura 20), la formación del embrión, es de igual forma partenogénético, siendo solo necesario un gameto femenino no reducido ($2n$), sin embargo el endospermo se forma por medio de las dos células nucleares no reducidas ($4n$), más una célula del esperma no reducida ($2n$) (Tabla 11 y Anexo 2). Es decir, que en este caso es necesario que exista fertilización en el endospermo (Matzk *et al.*, 2000; Vinkenoog & Scott, 2001; Heenan *et al.*, 2003; Matzk, 2007). Estos eventos de pseudogamia fueron únicamente reportados para las semillas de *Lachemilla hirta*, y estuvieron presentes en los tratamientos de bolsas de organza y control (Tabla 9), lo que podría significar una actividad accidental de los insectos visitantes, en el caso del control, o del viento en los tratamientos de control y organza. La pseudogamia se encuentra relacionada a la aposporia (Anexo 2) (Czapik, 1996).

Se ha reportado que tanto la apomixis autónoma como la pseudogamia pueden ocurrir en una misma especie, en este caso es lo que sucede en *Lachemilla hirta* (Tabla 9) (Czapik, 1996).

La citometría de flujo también dio como resultados la presencia de semillas aneuploides, en ambas especies (Tabla 9 y Tabla 10), y triploides ($2n = 3x$), únicamente en *Lachemilla hispidula* (Tabla 10 y Figura 22). Se ha observado que existe una correlación directa entre la apomixis con estos dos eventos genéticos (Wet & Borgaonkar, 1963; Nassar *et al.*, 1998;

Sharbel & Mitchell-Olds, 2001; Richards, 2003; Schranz *et al.*, 2005; Dickinson *et al.*, 2007; Ozias-Akins & van Dijk, 2007; Quero Carrillo *et al.*, 2010). Según Sharbel & Mitchell-Olds (2001), existen dos teorías para la asociación de la poliploidía con las especies apomícticas, una de ellas es que la poliploidía es un requerimiento para la presencia de la apomixis, ya que de esta forma se pueden transmitir ciertos genes relacionados a este mecanismo reproductivo con mayor facilidad; o, que la poliploidía no sea esencial para la apomixis, sino que simplemente ésta sea seleccionada con mayor facilidad en organismos poliploides que en diploides, sin embargo, esto no significa que la apomixis no esté presente en éste último, ya que *Lachemilla hirta* y *L. hispidula* son mayormente diploides (Tabla 9 y Tabla 10), sino que simplemente la apomixis en plantas diploides represente solo un estado de transición. Richards (2003), por otro lado, explica que la poliploidía es una consecuencia de la apomixis, y se origina debido a la ausencia de la recombinación génica; de esta manera también se propicia el apareamiento de híbridos. La diploidía en la apomixis favorecería a la acumulación de mutaciones desventajosas, por esta razón, es poco común encontrar plantas apomícticas diploides.

Algunos géneros pueden contener especies con distintos niveles de ploidía, y muchas veces variar geográficamente en sus mecanismos reproductivos (Dickinson *et al.*, 2007).

Las plantas triploides son poco probables que puedan producir descendencia triploide estable por medio de mecanismos sexuales normales, ya que se forman gametos genéticamente desbalanceados, por lo tanto, en este caso, la apomixis es el único mecanismo viable de reproducción (Sharbel & Mitchell-Olds, 2001). Los embriones triploides se forman por medio de la fertilización de gametos femeninos o masculinos no reducidos ($2n + n$) (Matzk *et al.*, 2000).

En *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*, también se encontraron embriones aneuploides, que pudieron originarse simplemente por la dinámica del flujo genético entre organismos de

distinta ploidía (Quero Carrillo *et al.*, 2010). Nassar *et al.* (1998), también explican que durante un ciclo reproductivo apomíctico, existen dos eventos distintos al ciclo sexual normal, estos son la pérdida de la meiosis y la pérdida parcial o total de fertilización, que pueden provocar el apareamiento de la aneuploidía. Sin embargo, se ha visto que existe una selección a favor de los organismos euploides (Wet & Borgaonkar, 1963).

Por último, se ha evidenciado que cuando los mecanismos de reproducción sexual y apomíctica co- existen, la reproducción asexual es heredada y dominante frente a la sexual (Wet & Borgaonkar, 1963).

7. CONCLUSIONES

Este trabajo resultó ser completamente novedoso para el género *Lachemilla*, por lo que muchas veces fue difícil encontrar información útil y sobre todo adecuarla a las especies, *L. hirta* y *L. hispidula*. Este estudio permitió obtener datos antes desconocidos acerca de las interacciones con otros organismos y los mecanismos de reproducción asexual.

Durante el estudio se observó que los individuos de *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*, son hospederos de importancia para que otras especies de organismos interactúen con las mismas o entre ellos, formando una red de interacciones. Las plantas proporcionan un sitio de alimentación, reproducción y protección contra depredadores o el clima.

El grupo Diptera, fue el grupo más abundante de insectos en la localidad, con las familias Scatopsidae y Sciaridae como las más representativas, y su importancia radica principalmente en que son la principal fuente alimenticia para otros grupos, como los Hymenoptera, que corresponde al segundo grupo más abundante, y donde casi todos sus integrantes son parasitoides de dípteros.

Los insectos observados en *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*, están estrechamente relacionados a la temperatura, por lo tanto, únicamente existe presencia de actividad cuando las condiciones son buenas.

Los tratamientos de polinización permitieron determinar que en *Lachemilla hirta*, existe similar producción de frutos tanto en aquellas inflorescencias que estuvieron cubiertas con bolsas de organza como aquellas sin bolsas. En *L. hispidula*, por otro lado, la producción de frutos fue mayor en aquellas plantas sin cobertura que en las inflorescencias con recubrimiento. Estos resultados están asociados a la reproducción apomíctica de *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*.

En los análisis de citometría de flujo, se corroboró los resultados obtenidos en los experimentos de polinización, siendo las semillas en un 92% apomícticas autónomas, y en

8% (solo en *Lachemilla hirta*) pseudógamas. De esta manera, se descarta cualquier tipo de actividad polinizadora por parte de los dípteros, aunque puede llegar a ser accidental para los casos de pseudogamia, ya sea por medio del viento o insectos.

En *Lachemilla hirta* y *L. hispidula* se encontraron embriones diploides, triploides (solo presentes en *L. hispidula*) y aneuploides, como consecuencia de la reproducción asexual presente en estas especies. Esto se debe a la falta de recombinación génica, común en un ciclo sexual normal, y como consecuencia del flujo génico entre plantas de distinta ploidía.

8. RECOMENDACIONES

Las trampas pegantes siempre son de ayuda para conocer la composición de la entomofauna del área de estudio, por lo cual sería bueno colocarlas al menos dos veces, una por estación, cuando se vaya a realizar una nueva investigación, ya que este estudio comprobó que la composición si varía a lo largo del tiempo y espacio, cuando se refiere a la composición interna de los grupos. Además, sería necesario probar distintos colores.

Para las observaciones directas sería más eficiente realizarlas, durante el invierno, únicamente entre las 10h30 a 12h30 de la mañana; y en el verano, las observaciones podrían alargarse alrededor de una hora más. Las condiciones climáticas en el resto del día no favorecen a los insectos para que éstos realicen actividades, por lo que sería infructuoso ejecutar colectas y observaciones. Es necesario que el esfuerzo de muestreo sea equivalente a lo largo de la investigación, porque puede existir un sesgo en la cantidad de insectos colectados y observados.

El estudio de la fenología en *Lachemilla* es un tema que está pendiente, ya que lo único que se sabe es que *Lachemilla* es un género que se encuentra en constante floración a lo largo de todo el año. Aún falta responder varias preguntas acerca de cuántas flores se producen por planta, cuál es la frecuencia de formación de nuevas flores y cuánto tiempo tarda hasta que la flor produzca frutos. Sería igualmente recomendable para futuros estudios, realizar experimentos sobre auto-compatibilidad y fertilidad del polen.

Existe una correlación positiva entre la existencia de apomixis y la mayor altitud y latitud (Heenan *et al.*, 2003; Hörandl *et al.*, 2008, 2011), y se sabe que este evento está presente en las familias Asteraceae, Rosaceae y Poaceaea. Por lo tanto, se sugiere que en futuros estudios con estas familias en altitudes superiores a los 3000 m.s.n.m., empiecen con el estudio de apomixis, para saber si existe alguna forma de reproducción sexual, que pueda involucrar a insectos o el viento.

Por último, es necesario ampliar estos estudios a otras especies de *Lachemilla* y en otras localidades, ya que esto puede ayudar a tener una mejor visión de lo que pasa con la biología reproductiva de este género de tanta importancia ecológica para los ecosistemas parameros.

9. LITERATURA CITADA

- Arroyo, M.T.K., Primack, R. & Armesto, J. 1982. Community studies in pollination ecology in the high temperate Andes of Central Chile. I. Pollination mechanisms and altitudinal variation. *American Journal of Botany* 69(1): 82–97.
- Barrientos, Z. & Monge-Nájera, J. 1995. Geographic homogeneity among insect communities in Neotropical paramos: a hypothesis test. *Caldasia* 18: 49 – 56.
- Bicknell, R.A. & Koltunow, A.M. 2004. Understanding apomixis: recent advances and remaining conundrums. *The Plant cell* 16: 228–245.
- Blanco, M.A. & Barboza, G. 2005. Pseudocopulatory pollination in *Lepanthes* (Orchidaceae: Pleurothallidinae) by fungus gnats. *Annals of Botany* 95(5): 763–772.
- Bolmgren, K., Eriksson, O. & Linder, H.P. 2003. Contrasting flowering phenology and species richness in abiotically and biotically pollinated angiosperms. *Evolution* 57(9): 2001–2011.
- Brown, A.O. & McNeil, J.N. 2009. Pollination ecology of the high latitude, dioecious cloudberry (*Rubus chamaemorus*; Rosaceae). *American Journal of Botany* 96(6): 1096–1107.
- Campbell, C.S., Greene, C.W. & Dickinson, T.A. 1991. Reproductive biology in Subfam. Maloideae (Rosaceae). *Systematic Botany* 16(2): 333–349.
- Campbell, J. & Hanula, J.L. 2007. Efficiency of malaise traps and colored pan traps for collecting flower visiting insects from three forested ecosystems. *Journal of Insect Conservation* 11(4): 399–408.

- Capinera, J. L. 2008. Encyclopedia of Entomology. Second edition. Vol. 3. University of Florida - Springer. pp 2742.
- Carneiro, V., Dusi, D. & Ortiz, J. 2006. Apomixis: occurrence, applications and improvements. Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology 564–571.
- Carrasco, A., Parión, H., Rodríguez, O. & Conlago, P. 2010. Oyacachi: reafirmando sus valores culturales y naturales mediante la gestión participativa. JICA, Samiri ProGea 10–97.
- Cruaud, A., Rønsted, N., Chantarasuwan, B., Chou, L.S., Clement, W.L., Couloux, A., Cousins, B., Genson, G., Harrison, R.D., Hanson, P.E., Hossaert-McKey, M., Jabbour-Zahab, R., Jouselin, E., Kerdelhué, C., Kjellberg, F., Lopez-Vaamonde, C., Peebles, J., Peng, Y.-Q., Pereira, R.A.S., Schramm, T., Ubaidillah, R., van Noort, S., Weiblen, G.D., Yang, D.-R., Yodpinyanee, A., Libeskind-Hadas, R., Cook, J.M., Rasplus, J.-Y. & Savolainen, V. 2012. An extreme case of plant-insect codiversification: figs and fig-pollinating wasps. Systematic Biology 61(6): 1029–1047.
- Cuesta, F., Peralvo, M.F. & Manen, F.T. van. 2003. Andean Bear habitat use in the Oyacachi river basin, Ecuador. Ursus 14(2): 198–209.
- Curtis, H., Barnes, N.S., Schnek, A. & Massarini, A. 2008. Curtis Biología. Editorial Médica Panamericana.
- Czapik, R. 1996. Problems of apomictic reproduction in the families Compositae and Rosaceae. Folia Geobotanica 31(3): 381–387.

- Dickinson, T.A., Lo, E. & Talent, N. 2007. Polyploidy, reproductive biology, and Rosaceae: understanding evolution and making classifications. *Plant Systematics and Evolution* 266(1-2): 59–78.
- Dobeš, C., Lückl, A., Hülber, K. & Paule, J. 2013. Prospects and limits of the flow cytometric seed screen-insights from *Potentilla* sensu lato (Potentilleae, Rosaceae). *The New Phytologist* 198(2): 605–616.
- Domic, A.I., Mamani, E. & Camilo, G. 2013. Fenología reproductiva de la kewiña (*Polylepis tomentella*, Rosaceae) en la puna semihúmeda de Chuquisaca (Bolivia). *Ecología en Bolivia* 48(1): 31–45.
- Dupont, Y.L., Hansen, D.M. & Olesen, J.M. 2003. Structure of a plant–flower–visitor network in the high-altitude sub-alpine desert of Tenerife, Canary Islands. *Ecography* 26(3): 301–310.
- Ellis, A.G. & Johnson, S.D. 2009. The evolution of floral variation without pollinator shifts in *Gorteria diffusa* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 96(4): 793–801.
- Etcheverry, A.V., Alemán, M.M. & Fleming, T.F. 2008. Flower morphology, pollination biology and mating system of the complex flower of *Vigna caracalla* (Fabaceae: Papilionoideae). *Annals of Botany* 102(3): 305–316.
- Fagua, J.C. & Gonzalez, V.H. 2007. Growth rates, reproductive phenology, and pollination ecology of *Espeletia grandiflora* (Asteraceae), a giant andean caulescent rosette. *Plant Biology* 9(1): 127–135.
- Focke, W. 1888. Rosaceae. En: *Die Natürlichen Pflanzenfamilien III* (A. Engler & E. Prantl, eds.) pp. 1–61.

- Font Quer, P. 2009. Diccionario de botánica. Península S. A., Barcelona.
- Friedman, J. & Barrett, S.C.H. 2009. Wind of change: new insights on the ecology and evolution of pollination and mating in wind-pollinated plants. *Annals of Botany* 103(9): 1515–1527.
- Gärdenfors, U. 1990. *Trioxys apterus* sp. n. from Ecuador, a new wingless species of Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae). *Insect Systematics & Evolution* 21(1): 67–69.
- Gaviria, J. 1996. Sinópsis del género *Lachemilla* (Focke) Rydberg (Rosaceae) para Venezuela. *Plantula* 1(3): 189–212.
- Gehrke, B., Bräuchler, C., Romoleroux, K., Lundberg, M., Heubl, G. & Eriksson, T. 2008. Molecular phylogenetics of *Alchemilla*, *Aphanes* and *Lachemilla* (Rosaceae) inferred from plastid and nuclear intron and spacer DNA sequences, with comments on generic classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47(3): 1030–1044.
- Greilhuber, J., Doležal, J., Lysák, M.A. & Bennett, M.D. 2005. The Origin, Evolution and Proposed Stabilization of the Terms “Genome Size” and “C-Value” to Describe Nuclear DNA Contents. *Annals of Botany* 95(1): 255–260.
- Grey, J., Kelly, A., Ward, S., Sommerwerk, N. & Jones, R.I. 2004. Seasonal changes in the stable isotope values of lake-dwelling chironomid larvae in relation to feeding and life cycle variability. *Freshwater Biology* 49(6): 681–689.
- Gyan, K.Y. & Woodell, S.R.J. 1987a. Analysis of insect pollen loads and pollination efficiency of some common insect visitors of four species of woody Rosaceae. *Functional Ecology* 1(3): 269–274.

- Gyan, K.Y. & Woodell, S.R.J. 1987b. Flowering phenology, flower colour and mode of reproduction of *Prunus spinosa* L. (Blackthorn); *Crataegus monogyna* Jacq. (Hawthorn); *Rosa canina* L. (Dog Rose); and *Rubus fruticosus* L. (Bramble) in Oxfordshire, England. *Functional Ecology* 1(3): 261–268.
- Hanson, P.E. & Gauld, I.D. 2006. Hymenoptera de la región neotropical. The American Entomological Institute.
- Heenan, P.B., Molloy, B.P.J., Bicknell, R.A. & Luo, C. 2003. Levels of apomictic and amphimictic seed formation in a natural population of *Coprosma robusta* (Rubiaceae) in Riccarton Bush, Christchurch, New Zealand. *New Zealand Journal of Botany* 41(2): 287–291.
- Herrera, J. 1988. Pollination relationships in southern spanish mediterranean shrublands. *Journal of Ecology* 76(1): 274–287.
- Hickey, M. & King, C. 2000. The Cambridge: illustrated glossary of botanical terms. Cambridge University Press.
- Hoback, W.W., Svatos, T.M., Spomer, S.M. & Higley, L.G. 1999. Trap color and placement affects estimates of insect family-level abundance and diversity in a Nebraska salt marsh. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91(3): 393–402.
- Hörandl, E., Cosendai, A.-C. & Temsch, E.M. 2008. Understanding the geographic distributions of apomictic plants: a case for a pluralistic approach. *Plant Ecology & Diversity* 1(2): 309–320.

- Hörandl, E., Dobeš, C., Suda, J., Vít, P., Urfus, T., Temsch, E.M., Cosendai, A.-C., Wagner, J. & Ladinig, U. 2011. Apomixis is not prevalent in subnival to nival plants of the European Alps. *Annals of Botany* 108(2): 381–390.
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI). 2014. Datos del 2003 al 2012 de temperatura de la estación en Papallacta.
- Jørgensen, P.M. & León-Yáñez, S. 1999. Catalogue of the vascular plants of Ecuador. Missouri Botanical Garden Press.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F. & Donoghue, M.J. 2008. Plant systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Inc.
- Kevan, P.G. & Baker, H.G. 1983. Insects as flower visitors and pollinators. *Annual Review of Entomology* 28(1): 407–453.
- Lagerheim, G. 1894. Über den andinen *Alchemilla*-Arten. Öfversigt af Förhandlingar: Kongl. Svenska Vetenskaps-Akademien (1): 15–18.
- Larson, B.M.H., Kevan, P.G. & Inouye, D.W. 2001. Flies and flowers: taxonomic diversity of anthophiles and pollinators. *The Canadian Entomologist* 133(04): 439–465.
- Luteyn, J.L. 1999. Páramos: a checklist of plant diversity, geographical distribution, and botanical literature. New York Botanical Garden Press New York.
- Matzk, F. 2007. Reproduction mode screening. En: *Flow Cytometry with Plant Cells* pp. 131–152. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Matzk, F., Meister, A. & Schubert, I. 2000. An efficient screen for reproductive pathways using mature seeds of monocots and dicots. *The Plant Journal* 21(1): 97–108.

- Miko, I. & Deans, A. 2009. *Masner*, a new genus of Ceraphronidae (Hymenoptera, Ceraphronoidea) described using controlled vocabularies. *ZooKeys* 20: 127–153.
- Morales Males, P. & Schejellerup, I. 1997. The people and their culture. En: Oyacachi - People and Biodiversity pp. 25–53. Centre for Research on Cultural and Biological Diversity of Andean Rainforests (DIVA).
- Morales-Briones, D.F. 2009. Relaciones filogenéticas de *Lachemilla* (Focke) Rydb. (Rosaceae) inferidas a partir de secuencias de ADN nuclear y cloroplástico, con énfasis en las especies del norte de Sudamérica. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Moreno, N.P. 1984. Glosario botánico ilustrado. Compañía Editorial Continental S.A. DEC. V.
- Nassar, N., Vieira, M.A.R., Vieira, C. & Gratapaglia, D. 1998. Evidence of apomixis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Genetics and Molecular Biology* 21(4).
- Ollerton, J., Masinde, S., Meve, U., Picker, M. & Whittington, A. 2009. Fly pollination in *Ceropegia* (Apocynaceae: Asclepiadoideae): biogeographic and phylogenetic perspectives. *Annals of Botany* 103(9): 1501–1514.
- Oxbrough, A.G. & Ramsay, P.M. 2001. Paramo spiders of Volcán Chiles, Ecuador. En: *The Ecology of Volcán Chiles: High-Altitude Ecosystems on the Ecuador-Colombia Border* (P.M. Ramsay, ed.) pp. 159–168. Plymouth: Pebble & Shell.
- Ozias-Akins, P. & van Dijk, P.J. 2007. Mendelian Genetics of Apomixis in Plants. *Annual Review of Genetics* 41(1): 509–537.

- Pendleton, B.K. & Pendleton, R.L. 1998. Pollination Biology of *Coleogyne ramosissima* (Rosaceae). The Southwestern Naturalist 43(3): 376–380.
- Perry, L.M. 1929. A tentative revision of *Alchemilla* section *Lachemilla*. Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University 841–57.
- Pías, B. & Guitián, P. 2006. Breeding system and pollen limitation in the masting tree *Sorbus aucuparia* L. (Rosaceae) in the NW Iberian Peninsula. Acta Oecologica 29(1): 97–103.
- Pihu, S., Hõimra, J., Köster, E. & Pärtel, M. 2009. Environmentally dependent morphological variability in seven apomictic microspecies from *Alchemilla* L. (Rosaceae). Folia Geobotanica 44(2): 159–176.
- Pillajo, P. & Pillajo, M. 2011. Plantas de Papallacta. Imprenta Inkprima.
- Pont, A.C. 1993. Observations on anthophilous Muscidae and other Diptera (Insecta) in Abisko National Park, Sweden. Journal of Natural History 27(3): 631–643.
- Quero Carrillo, A.R., Enríquez Quiroz, J.F., Morales Nieto, C.R. & Miranda Jiménez, L. 2010. Apomixis y su importancia en la selección y mejoramiento de gramíneas forrajeras tropicales: Revisión. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias 1(1): 25–42.
- Richards, A.J. 2003. Apomixis in flowering plants: an overview. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences 358(1434): 1085–1093.

- Romoleroux, K. 1996. Rosaceae. En: Flora of Ecuador. Vol 56 (G. Harling & L. Andersson, eds.) pp. 89–132. Department of Systematic Botany, University of Göteborg.
- Romoleroux, K. 2004. The genus *Lachemilla* (Rosaceae) in the northern Andes of South America. *Lyonia* 7(1): 21–32.
- Romoleroux, K., Cárate, D., Ralph, E. & Navarrete, H. En preparación. Plantas vasculares de los bosques de *Polylepis* en los páramos de Oyacachi, Ecuador.
- Romoleroux, K. & Morales-Briones, D.F. 2012. *Lachemilla jaramilloi* and *L. talamanquensis* spp. nov. (Rosaceae) from Ecuador and Costa Rica. *Nordic Journal of Botany* 30(6): 732–736.
- Rothmaler, W. 1937. Systematische Vorarbeiten zu einer Monographie der Gattung *Alchemilla* (L.) Scop. VII. Aufteilung der Gattung und Nomenklatur. *Repertorium novarum specierum regni vegetabilis* 42(11-15): 164–173.
- Rydberg, P. 1908. Rosaceae. North America Flora 22(4): 377–385.
- Sakai, S. 2001. Thrips pollination of androdioecious *Castilla elastica* (Moraceae) in a seasonal tropical forest. *American Journal of Botany* 88(9): 1527–1534.
- Sakai, S. 2002. *Aristolochia* spp. (Aristolochiaceae) pollinated by flies breeding on decomposing flowers. *Panama American Journal of Botany* 89 (3): 527–534.
- Schranz, M.E., Dobes, C., Koch, M.A. & Mitchell-Olds, T. 2005. Sexual reproduction, hybridization, apomixis, and polyploidization in the genus *Boechea* (Brassicaceae). *American Journal of Botany* 92(11): 1797–1810.

- Sharbel, T.F. & Mitchell-Olds, T. 2001. Recurrent polyploid origins and chloroplast phylogeography in the *Arabis holboellii* complex (Brassicaceae). *Heredity* 87(1): 59–68.
- Sklenář, P., Luteyn, J.L., Ulloa Ulloa, C., Jørgensen, P.M. & Dillon, M.O. 2005. Flora genérica de los Páramos: Guía ilustrada de las plantas vasculares. The New York Botanical Garden Press.
- Skov, F. 1997. Physical Setting. En: Oyacachi - People and Biodiversity pp. 13 – 14. Centre for Research on Cultural and Biological Diversity of Andean Rainforests (DIVA).
- Smithers, P. & Atkins, N. 2001. Altitudinal variation in paramo invertebrate communities on Volcán Chiles, with particular reference to Carabidae (Coleoptera). En: The Ecology of Volcán Chiles: High-Altitude Ecosystems on the Ecuador-Colombia Border (P.M. Ramsay, ed.) pp. 145–151. Plymouth: Pebble & Shell.
- Smithers, P., Ramsay, P.M., Bond, A.N. & Burne, M.E. 2001. Macro-arthropod communities of the giant rosette plant, *Espeletia pycnophylla* subsp. *angelensis*. En: The Ecology of Volcán Chiles: High-Altitude Ecosystems on the Ecuador-Colombia Border (P.M. Ramsay, ed.) pp. 169–175. Plymouth: Pebble & Shell.
- Ssymank, A., Kearns, C.A., Pape, T. & Thompson, F.C. 2008. Pollinating Flies (Diptera): A major contribution to plant diversity and agricultural production. *Biodiversity* 9(1-2): 86–89.

- Ståhl, B., Øllgaard, B. & Resl, R. 1997. Vegetation. En: Oyacachi - People and Biodiversity pp. 15–23. Centre for Research on Cultural and Biological Diversity of Andean Rainforests (DIVA).
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12: 253–279.
- Suda, J., Kron, P., Husband, B.C. & Trávníček, P. 2007. Flow cytometry and ploidy: applications in plant systematics, ecology and evolutionary biology. En: *Flow Cytometry with Plant Cells* pp. 103–130. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Triplehorn, C.A. & Johnson, N.F. 2005. Borror and Delong's introduction to the study of insects. Brooks/Cole, a division of Thomson Learning Inc.
- Vinkenoog, R. & Scott, R. 2001. Autonomous endosperm development in flowering plants: how to overcome the imprinting problem? *Sexual Plant Reproduction* 14(4): 189–194.
- Wet, J.M.J. de & Borgaonkar, D.S. 1963. Aneuploidy and Apomixis in *Bothriochloa* and *Dichanthium*. *Botanical Gazette* 124(6): 437–440.
- Wodehouse, R.P. 1933. Preparation of pollen for microscopic examination. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 60(6): 417–421.

10. FIGURAS



Figura 1. Hábito de *Lachemilla hirta*. Foto M. Subía.



Figura 2. Inflorescencia (superior) y detalle floral (inferior) de *Lachemilla hirta*. Foto del detalle floral R. Jarrín.



Figura 3. Hábito de *Lachemilla hispidula*.



Figura 4. Inflorescencia (superior) y detalle floral (inferior) de *Lachemilla hispidula*. Foto del detalle floral de R. Jarrín.



Figura 5. Protección de malla de acero en *Lachemilla hispidula*.



Figura 6. Tratamiento de bolsas de organza en *Lachemilla hirta* (izquierda) y *L. hispidula* (derecha).

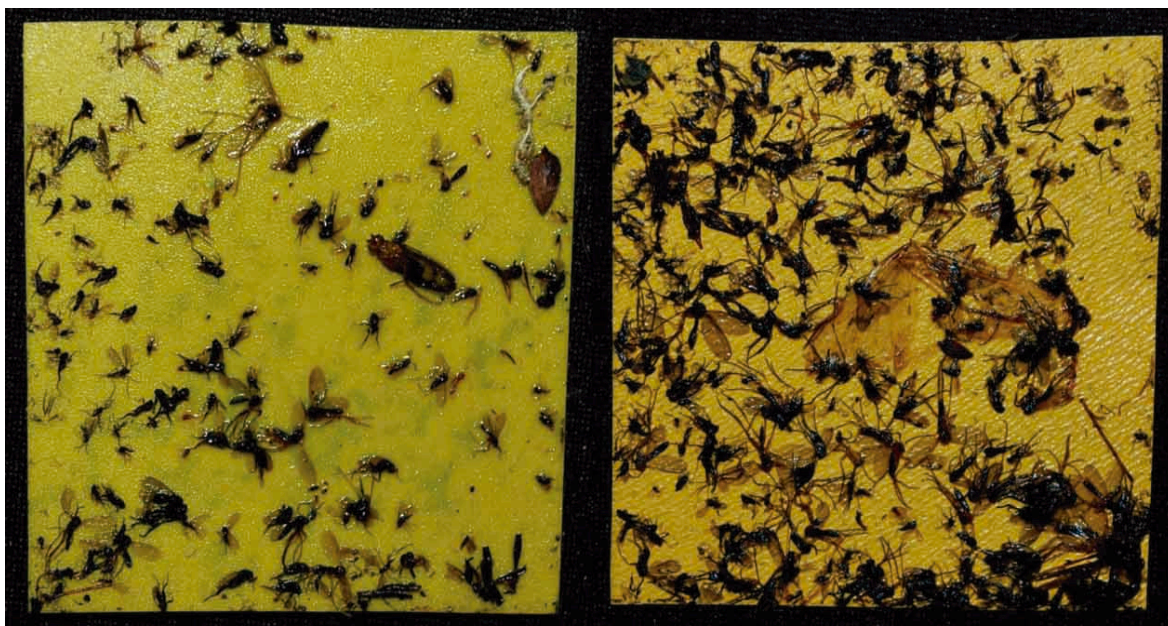


Figura 7. Trampas pegantes para determinar la composición de la entomofauna del área de estudio.



Figura 8. Tratamiento de bolsas de cera en *Lachemilla hirta* (izquierda) y *L. hispidula* (derecha).

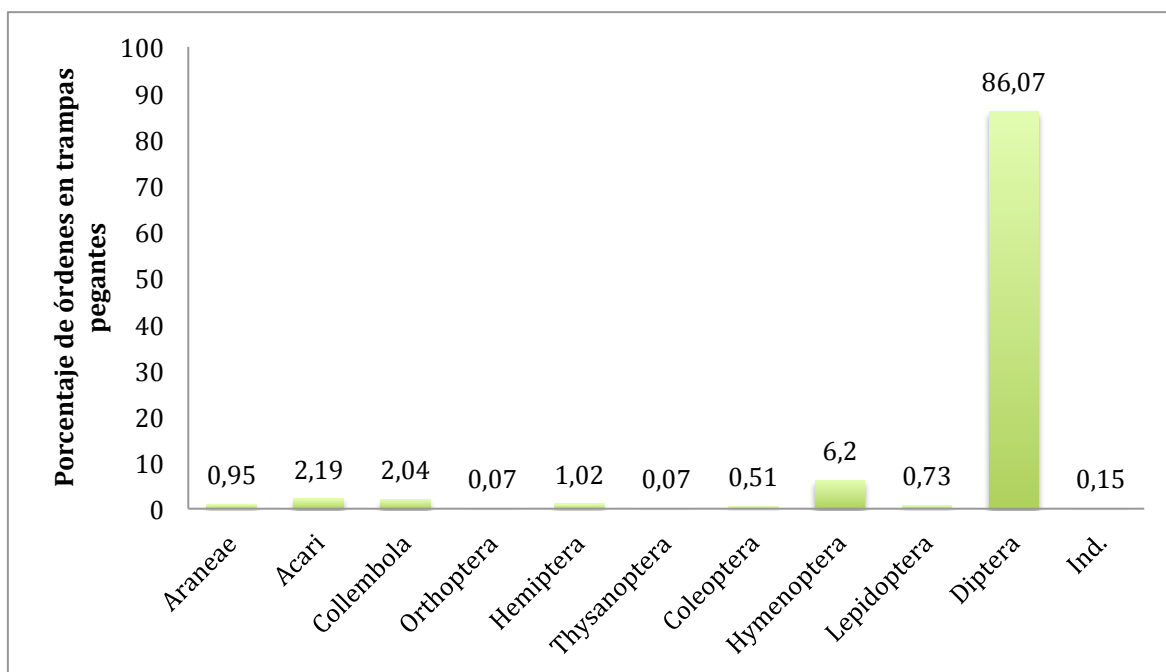


Figura 9. Composición de la entomofauna del área de estudio de la población de *Lachemilla hirta*.

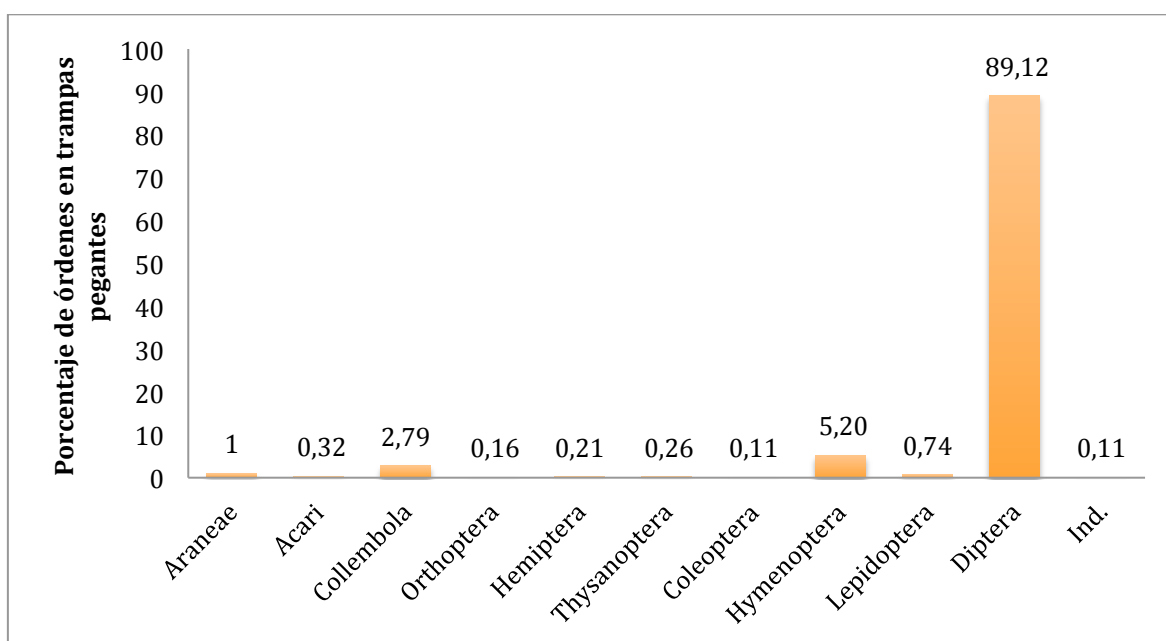


Figura 10. Composición de la entomofauna del área de estudio de la población de *Lachemilla hispidula*.



Figura 11. Los visitantes de la familia Scatopsidae en las flores de *Lachemilla hirta* (arriba) y *L. hispidula* (abajo).

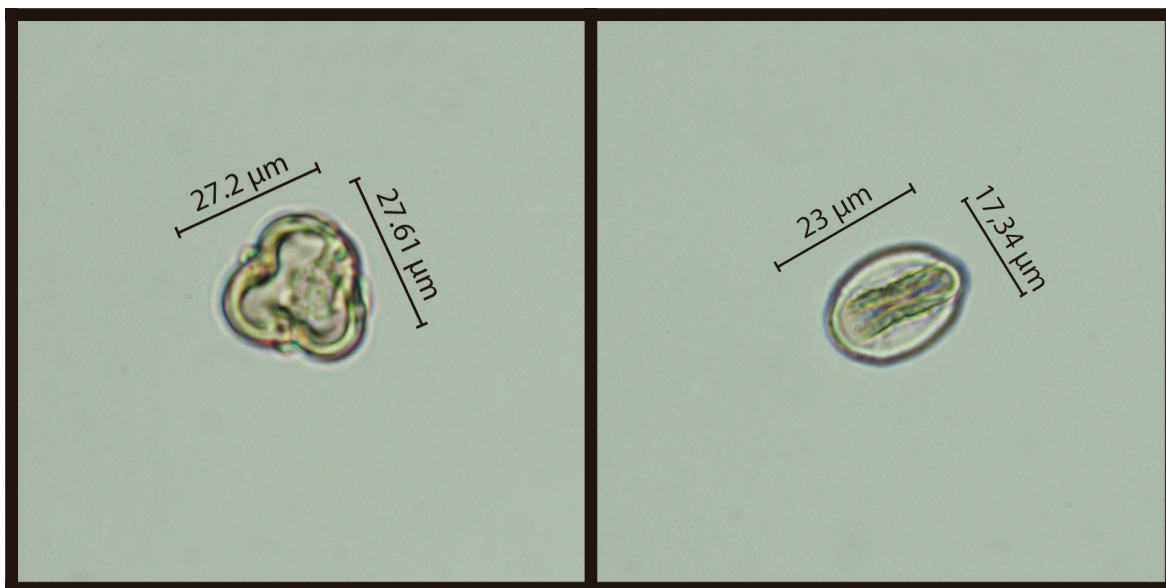


Figura 12. Polen de *Lachemilla hirta* obtenido en los insectos colectados. Vista polar (izquierda) y vista ecuatorial (derecha).

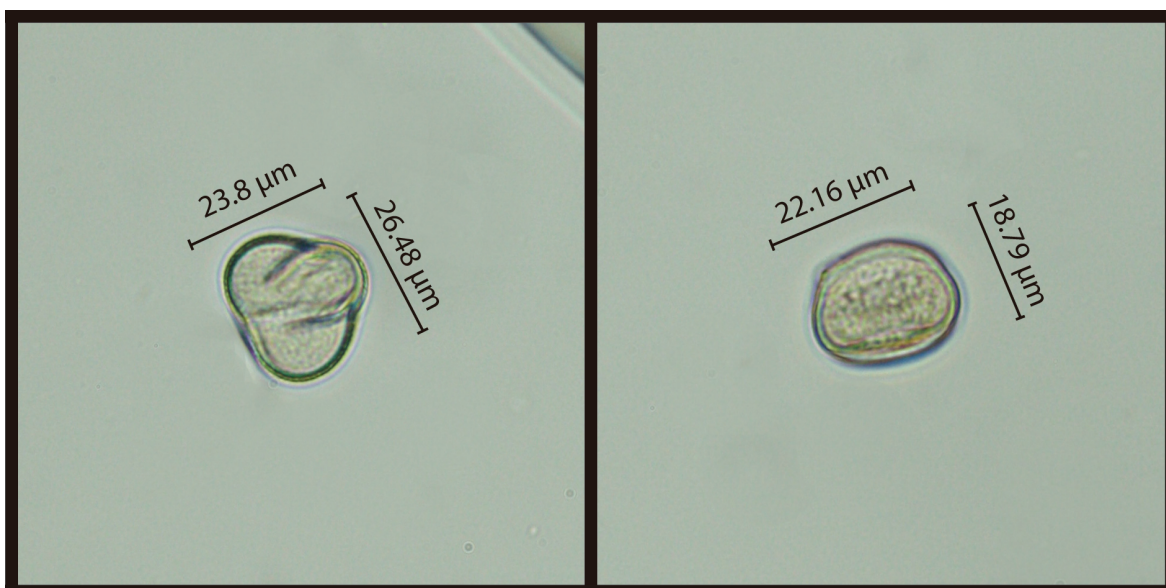


Figura 13. Polen de *Lachemilla hispidula* obtenido en los insectos colectados. Vista polar (izquierda) y vista ecuatorial (derecha).

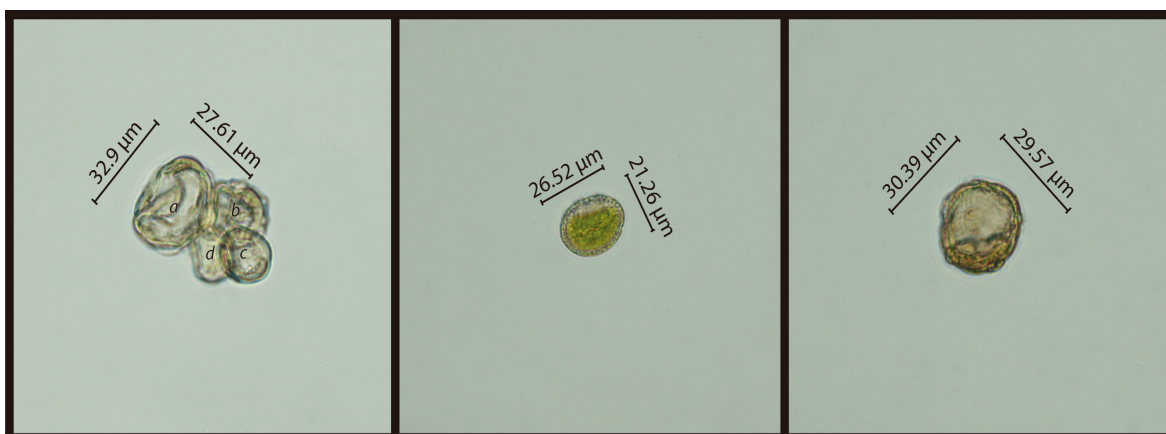


Figura 14. Polen del complejo Moraceae/Urticaceae (foto izquierda, las medidas corresponden al grano de polen a), Bromeliaceae (*Puya* sp.) (centro) y Poaceae (derecha), obtenido en los insectos colectados.

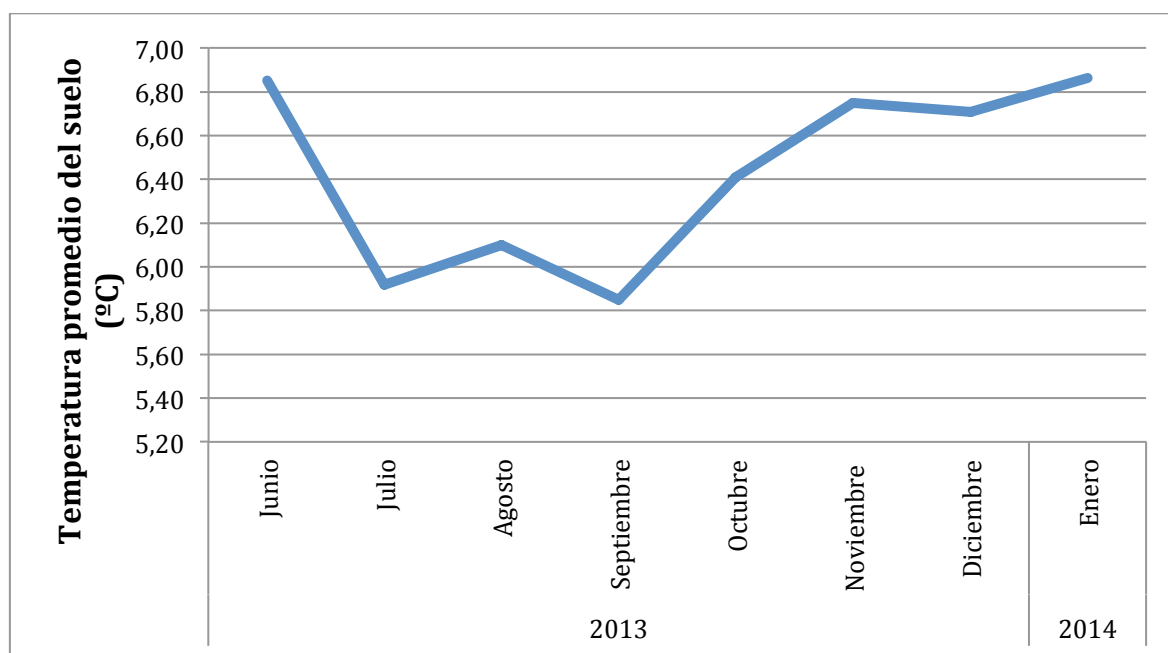


Figura 15. Temperatura promedio del suelo durante los meses de junio del 2013 a enero del 2014, en la población de *Lachemilla hirta*.

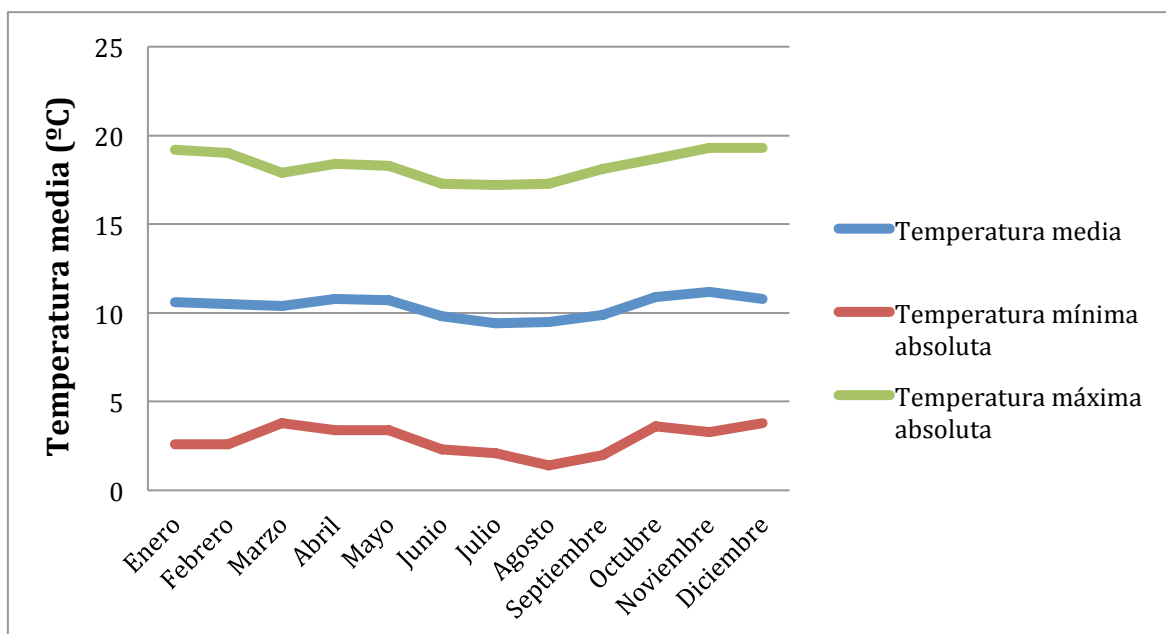


Figura 16. Temperatura media registrada en la localidad de Papallacta desde el año 2003 al 2012, a 3150 m.s.n.m. (Datos tomados del INAMHI).

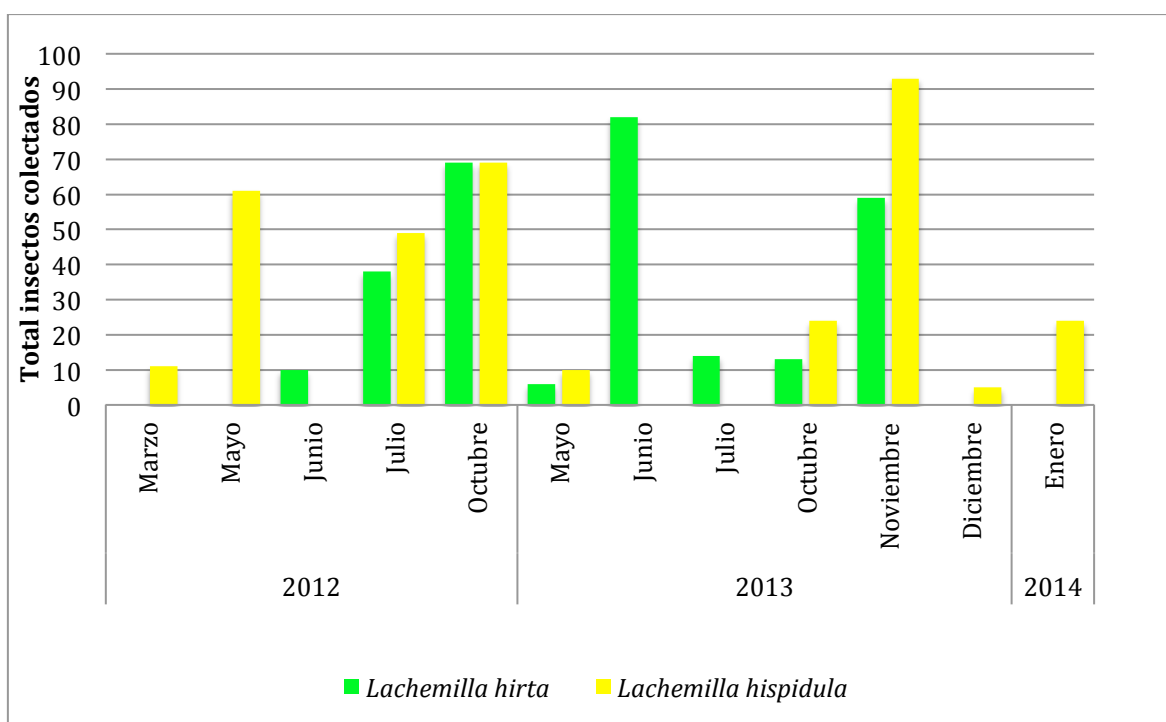


Figura 17. Actividad de la entomofauna durante los meses de observación y colecta en *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*.

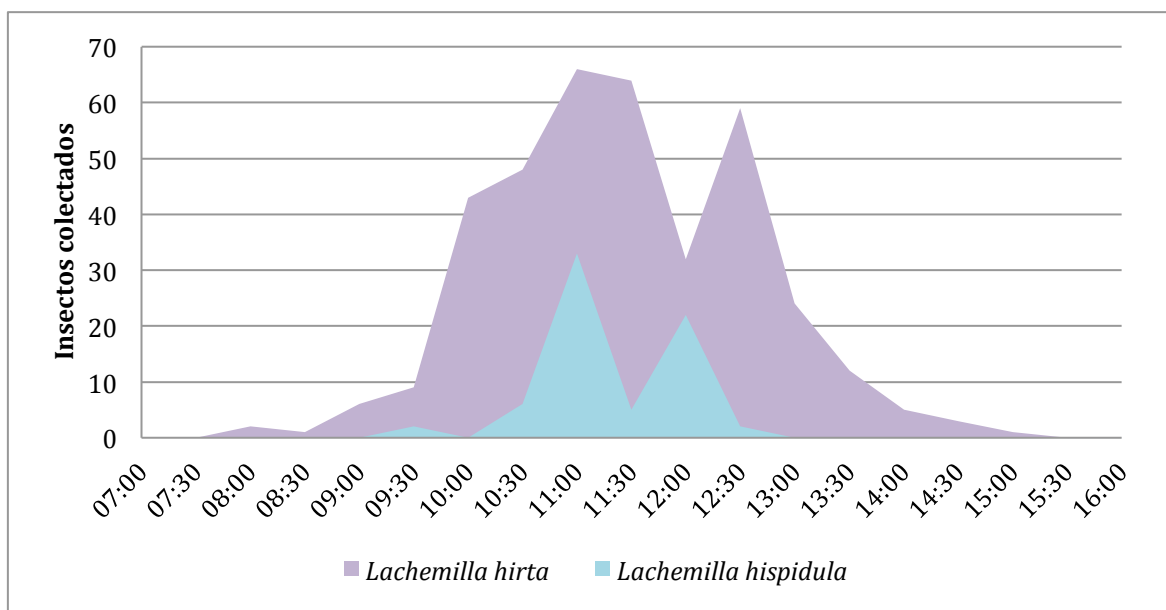


Figura 18. Actividad de la entomofauna durante las horas de observación y colecta en *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*.

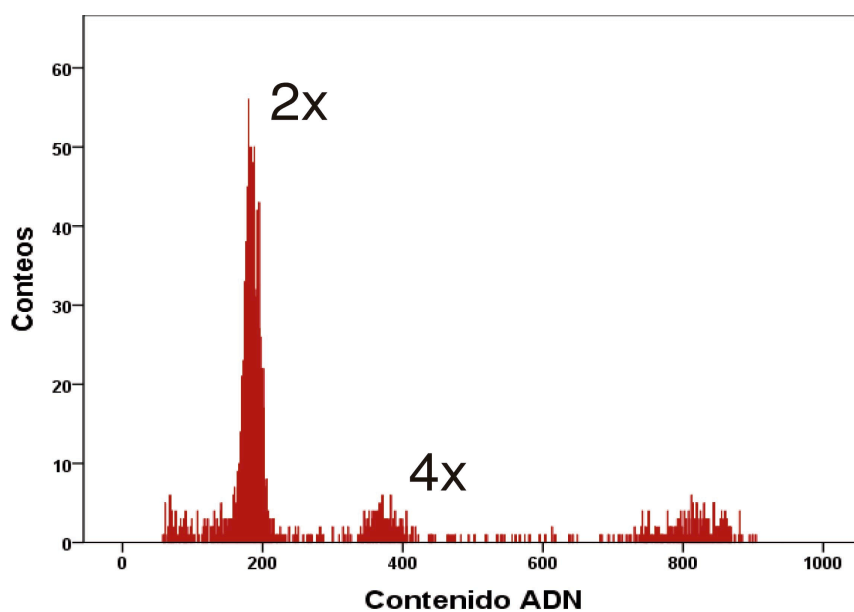


Figura 19. Histograma de la apomixis autónoma obligatoria en *Lachemilla hirta*. Primer pico correspondiente al embrión 2x, segundo pico, al endospermo 4x. Tercer pico corresponde a la muestra estándar (*Pisum sativum*).

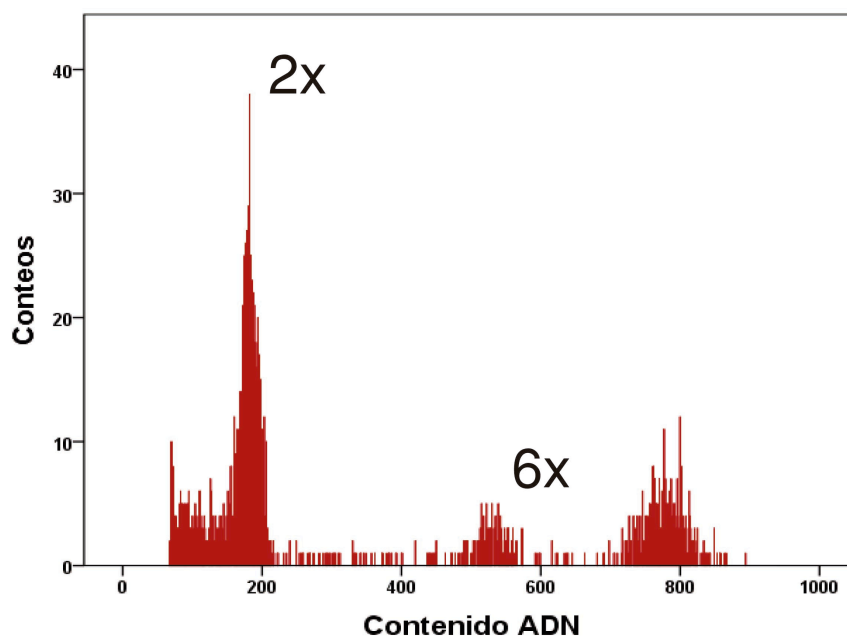


Figura 20. Histograma de la apomixis pseudógama en *Lachemilla hirta*. Primer pico correspondiente al embrión 2x, segundo pico, al endospermo 6x. Tercer pico corresponde a la muestra estándar (*Pisum sativum*).

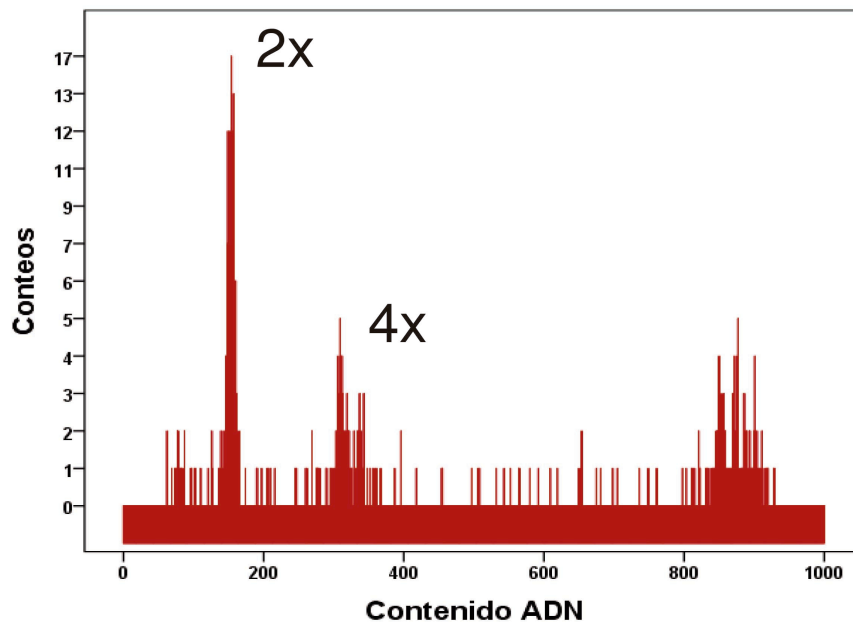


Figura 21. Histograma de la apomixis autónoma obligatoria en *Lachemilla hispidula*. Primer pico correspondiente al embrión 2x, segundo pico, al endospermo 4x. Tercer pico corresponde a la muestra estándar (*Pisum sativum*).

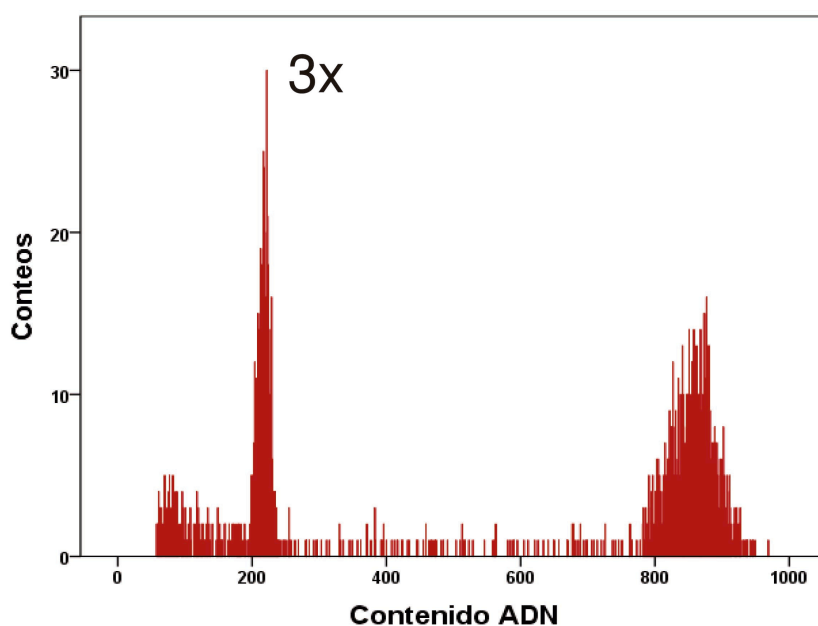


Figura 22. Histograma de embriones triploides en *Lachemilla hispidula*. Primer pico embrión 3x, segundo pico corresponde a la muestra estándar (*Pisum sativum*)

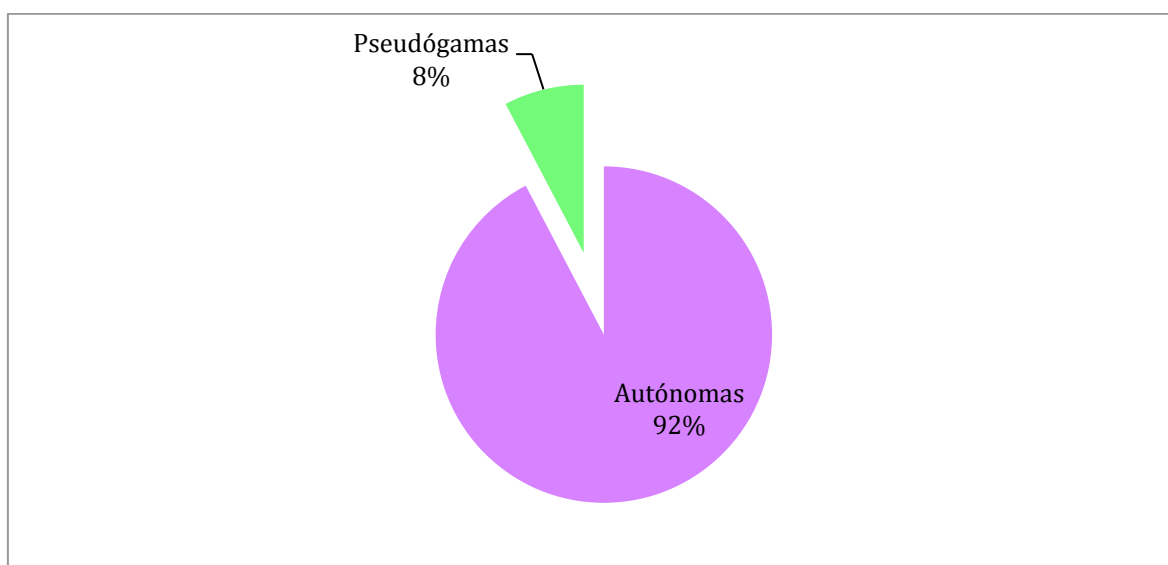


Figura 23. Porcentaje de vías apomícticas reproductivas encontradas en *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*.

11. TABLAS

Tabla 1. Anova de un factor que muestra las medias del número de frutos producidos por cada flor de *Lachemilla hirta* en los tratamientos de bolsas de organza y control durante el invierno.

Tratamiento	N	Media
Organza	315	0,82
Control	314	0,72
Total	629	0,77

Tabla 2. Prueba de Mann-Whitney para comparar la formación de frutos en las flores de *Lachemilla hirta* con los tratamientos de bolsas de organza y control durante el invierno.

Prueba estadística	Número de frutos
U de Mann-Whitney	45750,500
W de Wilcoxon	95205,500
Z	-1,755
Sig. asintót. (bilateral)	,079

Tabla 3. Anova de un factor que muestra las medias del número de frutos producidos por cada flor de *Lachemilla hirta* en los tratamientos de bolsas de organza y control durante el verano.

Tratamiento	N	Media
Organza	128	0,85
Control	128	0,71
Total	256	0,78

Tabla 4. Prueba de Mann-Whitney para comparar la formación de frutos en las flores de *Lachemilla hirta* con los tratamientos de bolsas de organza y control durante el verano.

Prueba estadística	Número de frutos
U de Mann-Whitney	7435,500
W de Wilcoxon	15691,500
Z	-1,378
Sig. asintót. (bilateral)	,168

Tabla 5. Anova de un factor que muestra las medias del número de frutos producidos por cada flor de *Lachemilla hispidula* en los tratamientos de bolsas de organza y control durante el invierno.

Tratamiento	N	Media
Organza	213	1,90
Control	213	2,30
Total	426	2,10

Tabla 6. Prueba de Mann-Whitney para comparar la formación de frutos en las flores de *Lachemilla hispidula* con los tratamientos de bolsas de organza y control durante el invierno.

Prueba estadística	Número de frutos
U de Mann-Whitney	16165,500
W de Wilcoxon	38956,500
Z	-5,576
Sig. asintót. (bilateral)	,000

Tabla 7. Lista de visitantes, parasitoides e hiperparasitoides encontrados en *Lachemilla hirta*.

<i>Lachemilla hirta</i>		
Visitador	Parasitoide *	Hiperparasitoide *
Acari		
Araneae	Eulophidae	
	Pteromalidae	
Isopoda		
Collembola		
Hypogastruridae		
Orthoptera	Eulophidae	
	Mymaridae	
Blattodea	Eulophidae	
Hemiptera	Eulophidae	
	Ceraphronidae	
Cicadellidae	Mymaridae	
	Ceraphronidae	
Larva	Ceraphronidae	
Thysanoptera	Ceraphronidae	
	Eulophidae	
Coleoptera	Ceraphronidae	
	Eulophidae	
	Mymaridae	
	Pteromalidae	
Neuroptera (larva)	Ceraphronidae	
	Eulophidae	
	Brachycyrtinae ^a	Ceraphronidae
	Pteromalidae	
Trichoptera	Ceraphronidae	
Lepidoptera	Microgastrinae ^b	Ceraphronidae
		Megaspilidae
	Eulophidae	
	Pteromalidae	
Diptera		
Cecidomyiidae	Braconidae	Ceraphronidae
		Megaspilidae
	Ceraphronidae	
	Eulophidae	
	Platygastridae	
	Pteromalidae	
Dolichopodidae		
Drosophilidae	Ceraphronidae	
	Eucoilinae ^c	Megaspilidae
Fanniidae		

Continúa...

<i>Lachemilla hirta</i>		
Visitador	Parasitoide *	Hiperparasitoide *
Mycetophilidae	Belytinae ^d	
Phoridae	Braconidae	Ceraphronidae Megaspilidae
	Ceraphronidae	
	Eucoilinae	Megaspilidae
Scatopsidae		
Sarcophagidae	Braconidae	Ceraphronidae Megaspilidae
	Eucoilinae	Megaspilidae
Sciaridae	Ceraphronidae	
	Belytinae	
Ulididae		

* Todos los parasitoides e hiperparasitoides corresponden a Hymenoptera. Familias: ^a

Ichneumonidae, ^b Braconidae, ^c Figitidae y ^d Diapriidae.

Tabla 8. Lista de visitantes, parasitoides e hiperparasitoides encontrados en *Lachemilla hispidula*

<i>Lachemilla hispidula</i>		
Visitador	Parasitoide *	Hiperparasitoide *
Acari		
Araneae		
Diplopoda		
Collembola		
Isotomidae		
Orthoptera	Mymaridae	
Hemiptera		
Cicadellidae	Mymaridae	
Coleoptera	Megaspilidae	
Coleoptera (larva)	Mymaridae	
Lycidae	Mymaridae	
Lepidoptera	Tryphoninae ^a	
Diptera		
Chironomidae		
Empididae		
Fanniidae		
Mycetophilidae		
Phoridae	Eucoilinae ^b	Megaspilidae
Scatophagidae		
Scatopsidae		
Sciaridae	Ceraphronidae	
Tipulidae		

* Todos los parasitoides e hiperparasitoides corresponden a Hymenoptera. Familias: ^a

Ichneumonidae y ^b Figitidae

Tabla 9. Resultados de la citometría de flujo de las semillas de *Lachemilla hirta*, obtenidas de los tratamientos de papel cera, organza y control, durante las estaciones de invierno y verano.

<i>Lachemilla hirta</i>					
Tratamiento	Código	Número de semillas	Ploidía del embrión	Célula del esperma	Modo reproductivo
Papel cera (invierno)	HIR-2	2	2x	No presente	apomix
Papel cera (invierno)	HIR-4	2	NA	NA	NA
Papel cera (invierno)	HIR-8	2	NA	NA	NA
Papel cera (invierno)	HIR-19	2	NA	NA	NA
Papel cera (invierno)	HIR-24	2	2x	No presente	apomix
Organza (invierno)	HIR-OR (1)	1	NA	NA	NA
Organza (invierno)	HIR-OR (2)	2	NA - aneuploidía	No presente	apomix
Organza (invierno)	HIR-OR (3)	3	NA - aneuploidía	No presente	apomix
Organza (invierno)	HIR-OR (4)	2	2x	No presente	apomix
Control (invierno)	HIR-CON (1)	2	NA	NA	NA
Control (invierno)	HIR-CON (2)	2	NA	NA	NA
Organza (verano)	HIROR-3	2	2x	No presente	apomix
Organza (verano)	HIROR-6	2	2x - aneuploidía	No presente	-----
Organza (verano)	HIROR-11	2	NA	NA	NA
Organza (verano)	HIROR-12	2	2x	No presente	apomix
Organza (verano)	HIROR-13(1)	1	2x	No presente	apomix
Organza (verano)	HIROR-13(2)	1	2x	Presente - no reducida	apomix
Organza (verano)	HIROR-18	2	2x	No presente	apomix
Organza (verano)	HIROR-22	2	NA	NA	NA
Control (verano)	HIR-CON2 (1)	2	2x	No presente	apomix
Control (verano)	HIR-CON2 (2)	2	NA	NA	NA

Continúa...

Continuación Tabla 9

<i>Lachemilla hirta</i>					
Tratamiento	Código	Número de semillas	Ploidía del embrión	Célula del esperma	Modo reproductivo
Control (verano)	HIR-CON2 (3)	2	2x	Presente - no reducida	Apomix
Control (verano)	HIR-CON2 (4)	2	2x	No presente	Apomix
Control (verano)	HIR-CON2 (5)	2	2x	No presente	Apomix

X: hace referencia al grado de ploidía presente en el embrión. NA: no existen resultados.

Tabla 10. Resultados de la citometría de flujo de las semillas de *Lachemilla hispidula*, obtenidas de los tratamientos de papel cera, organza y control, durante el invierno.

<i>Lachemilla hispidula</i>					
Tratamiento	Código	Número de semillas	Ploidía del embrión	Célula del esperma	Modo reproductivo
Papel cera	HISPI-3	2	2x	NA	NA
Papel cera	HISPI-14	2	3x	NA	NA
Papel cera	HISPI-16	2	2x	NA	NA
Papel cera	HISPI-18 (1)	2	2x	No presente	apomix
Papel cera	HISPI-18 (2)	2	2x	NA	NA
Papel cera	HISPI-18 (3)	2	2x	NA	NA
Papel cera	HISPI-19	2	2x	NA	NA
Papel cera	HISPI-20	2	2x	No presente	apomix
Papel cera	HISPI-21	2	2x	NA	NA
Papel cera	HISPI-24	2	2x	NA	NA
Organza	HISPI-OR (1)	2	2x	NA	NA
Organza	HISPI-OR (2)	2	2x	NA	NA
Organza	HISPI-OR (3)	2	2x	No presente	apomix
Organza	HISPI-OR (4)	1	2x	No presente	apomix
Organza	HISPI-OR (5)	1	3x	NA	NA
Organza	HISPI-OR (6)	2	2x	NA	NA
Organza	HISPI-OR (7)	2	2x	No presente	apomix
Control	HISPI-CON (1)	2	2x - aneuploidía	No presente	apomix
Control	HISPI-CON (2)	2	2x	NA	NA
Control	HISPI-CON (3)	2	2x	No presente	apomix
Control	HISPI-CON (4)	2	2x	NA	NA

X: hace referencia al grado de ploidía presente en el embrión. NA: no existen resultados.

Tabla 11. Vías reproductivas apomíticas encontradas en las especies *Lachemilla hirta* y *L. hispidula*.

Vías Reproductivas Apomíticas de <i>Lachemilla hirta</i> y <i>L. hispidula</i>										
No semillas	Emb/end ^a	Gametos femeninos		Gametos masculinos		Embrión		Endospermo		Formación de semillas
		Red. ^b	No red. ^c	Red. ^d	No red. ^e	Zig. ^f	Part. ^g	Fert. ^h	Aut. ⁱ	
36	2 (4)		X				X		X	Autónoma
3	2 (6)		X		X		X	X		Pseudogama

^a Valores de ploidía del endospermo entre paréntesis. ^b Gametos femeninos reducidos (n). ^c Gametos femeninos no reducidos (2n). ^d Gametos masculinos reducidos (n). ^e Gametos masculinos no reducidos (2n). ^f Formación del embrión zigótico. ^g Formación del embrión partenogenético. ^h Formación del endospermo por medio de fertilización. ⁱ Formación del endospermo autónomo.

* Tabla tomada y modificada de Matzk *et al.* (2000) y Matzk (2007).

12. ANEXOS

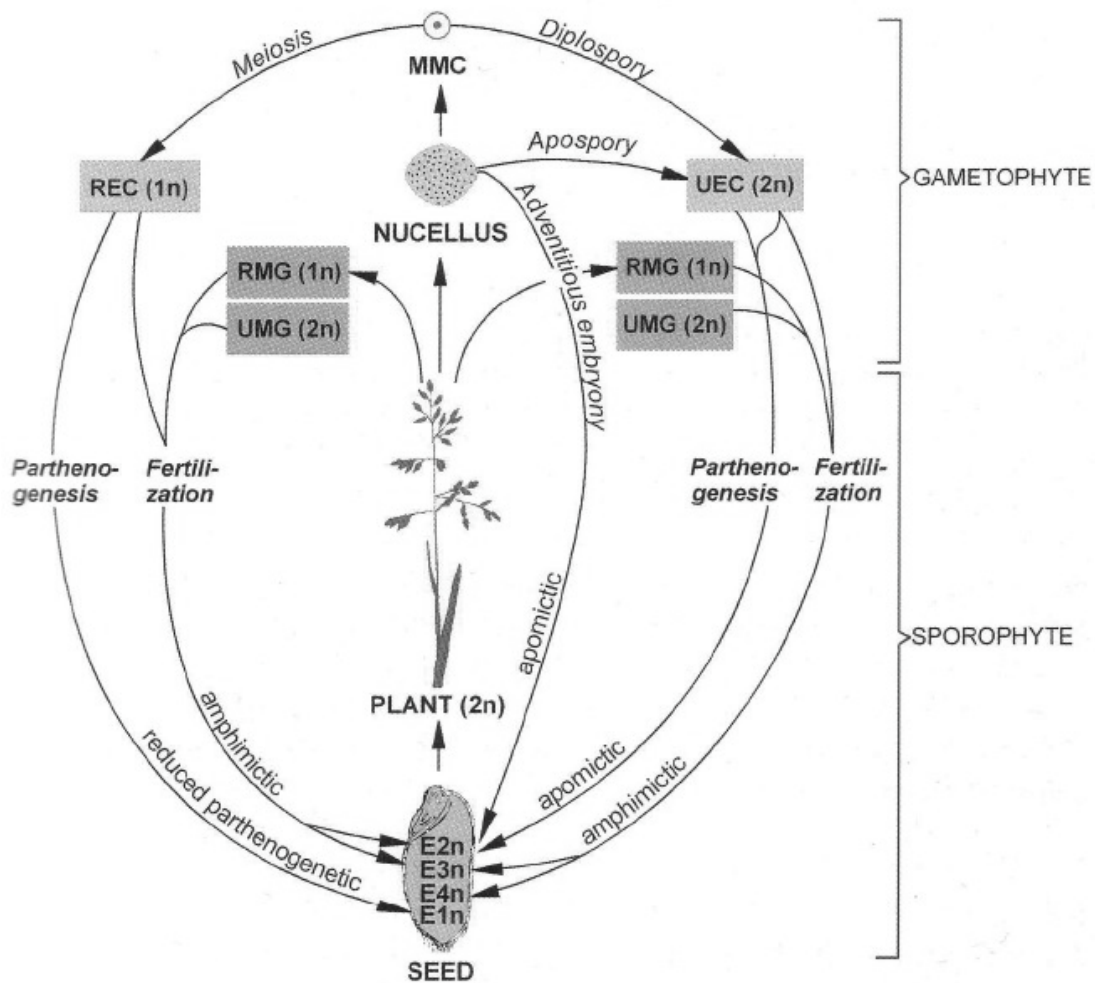
Anexo 1. Características florales de plantas polinizadas por el viento o por animales.

Agente polinizador	Características florales					
Viento	Se producen varias flores con pétalos pequeños o ausentes, de color verde o blanquecino. Los nectarios están ausentes y carecen de fragancia. Los estilos son plumosos, tienen uno o pocos óvulos por flor. El polen no presenta mucha variación de tamaño y carece de ornamentación. Las flores son unisexuales y la floración sincronizada. Habitan usualmente en espacios abiertos y generalmente están distribuidas en regiones templadas.					
Animal	Se producen pocas flores con pétalos largos, de colores contrastantes o mezcla de varios colores. Tienen nectarios, y las flores son fragantes. Los estilos no son plumosos, y tienen varios óvulos por flor. El tamaño del polen es altamente variable, y presentan ornamentación. Las flores son bisexuales, y no existe mucha sincronía en la floración. Habitan usualmente en sitios cerrados. Principalmente están distribuidas en regiones tropicales y templadas.					
	Polinizador	Color	Fragancia	Tiempo de floración	Corola	Recompensa
	Hymenoptera (Abejas)	Azul, amarillo, morado	Fuerte y fresco	Día	Bilateral, plataforma de aterrizaje	Néctar y/o polen
	Lepidoptera (Mariposas)	Brillante, usualmente rojo	Débil y fresco	Día	Plataforma de aterrizaje	Néctar
	Lepidoptera (Polillas)	Blanca o pálida	Fuerte y dulce	Noche	Disecada	Néctar
	Diptera (Moscas de recompensa)	Clara	Casi imperceptible	Día	Radial y poco profundas	Néctar y/o polen
	Diptera (Moscas de carroña)	Café, morada	Fuerte y podrido	Día o noche	Entrecerradas o abiertas	-----
	Coleoptera	Usualmente verde o blanca	Varios	Día o noche	Cerradas o abiertas	Néctar y/o polen
	Aves	Brillante, usualmente rojo	-----	Día	Tubular	Néctar
	Mamíferos voladores	Blanquecina	Fuerte, almizclado	Noche	Flores vistosas	Néctar y/o polen
	Mamíferos no voladores	Opacos	Variable	Noche	Robustas con estambres y estilos expuestos	Néctar y/o polen

* Tabla realizada en base a información obtenida de Judd *et al.*, 2008, y Friedman y

Barrett, 2009.

Anexo 2. Diagrama de los mecanismos apomícticos y sexuales en el ciclo de vida de las Angiospermas.



REC, célula del huevo reducida; UEC, célula del huevo no reducida; RMG, gametos masculinos reducidos; UMG, gametos masculinos no reducidos; E, embrión. E1n, origen partenogenético a partir de la célula del huevo reducida; E2n, origen sexual por medio de una célula del huevo reducida fertilizada por un gameto masculino reducido o apomíctico por medio de una célula del huevo no reducida; E3n, originado de una célula del huevo reducida fertilizada por un gameto masculino no reducido o viceversa; y E4n, originado por una célula del huevo no reducida fertilizada por un gameto masculino no reducido. Tomado de Matzk (2007).

Anexo 3. Glosario. Tomado de Moreno (1984), Bicknell & Koltunow (2004), Greilhuber *et al.* (2005), Capinera (2008), Curtis *et al.* (2008) y Font Quer (2009).

Abaxial: Referente a la superficie o lado más alejado del eje principal u orientado hacia a la base; el envés.

Acropétala (lo): Dícese de lo que se desarrolla desde la base hacia el ápice.

Actinomorfo (fa): Dícese de cualquier parte u órgano vegetal que tenga por lo menos dos planos de simetría.

Acuminado (da): Con márgenes rectos o convexos que terminan en un ángulo menor a 45°.

Adaxial: Referente a la superficie o lado más cercano del eje principal u orientado hacia a el ápice; el haz.

Adnado (da): Órganos o partes de órganos diferentes unidos integralmente.

Adpreso: Dícese de los pelos aplicados contra la hoja.

Almizcle: Sustancia grasa, untuosa, de olor intenso que algunos animales producen en el almizclero. En plantas, dícese de cualquiera de las sustancias de olor muy similar al almizcle vegetal.

Amplexicaule: Aplícase a las hojas o brácteas que abrazan el tallo.

Aneuploidía: Adición o pérdida de uno o dos cromosomas enteros; que no son múltiples del número cromosómico base. Célula o individuo con un número de cromosomas que no es múltiplo exacto del número haploide.

Anfimíctico: Perteneciente a anfimixis.

Anfimixis: Acto mediante el cual dos gametas se confunden en una sola célula. Unión de dos núcleos.

Apomixis: Producción asexual de semillas a partir del tejido maternal del óvulo que da origen a un embrión, aún cuando se han eludido procesos de fertilización y meiosis.

Aposporia: Cuando las células somáticas del óvulo forman un saco embrionario no reducido, que posteriormente, originará un embrión apomíctico.

Aquenio: Fruto simple, seco, indehiscente, monocarpo, derivado de un ovario súpero, unilocular.

Autónomo: Dícese en un proceso apomíctico, cuando el endospermo se forma espontáneamente, sin que exista fertilización.

Capitado (da): En forma de cabeza.

Cartáceo (a): De consistencia de papel o pergamino.

Célula madre de la megaspóra (MMC): Dícese de la célula que posee un núcleo diploide, que por miosis origina cuatro núcleos haploides (megasporas).

Cespitoso (sa): Que forma una mata aglomerada, como de césped.

Citometría de flujo: es una herramienta que combina la capacidad analítica de medir simultáneamente varios parámetros ópticos de las células y partículas sub-celulares, con el potencial de aislar poblaciones purificadas de partículas seleccionadas.

Clavado (da): En forma de clava.

Connado (a): Órganos parecidos unidos integralmente para formar una sola estructura.

Crenado (da): Con dientes redondeados.

Decumbente: Reclinado sobre el suelo con los extremos ascendentes.

Detritívoro: Organismo que vive de la materia orgánica muerta; incluye a carroñeros grandes, animales pequeños, algunos insectos, hongos y bacterias.

Diplosporia: Cuando la célula madre de la megaspóra (MMC) forma un saco embrionario no reducido, que posteriormente, originará un embrión apomíctico.

Disecado (da): Dividido en segmentos numerosos y angostos.

Ectotermo: Organismo cuya temperatura es controlada principalmente por una fuente externa de calor y su capacidad de generar calor metabólico es insignificante.

Episépalo: Dícese del estambre, estaminoido, nectario o carpelo que se halla situado frente a un sépalo.

Esporófito: En las plantas con alternación de generaciones, la generación que presenta esporas asexuales.

Euploidía: Individuo, organismo, cepa o célula con un número de cromosomas que es un múltiplo exacto del número haploide característico de su especie. Un poliploide regular cuyo número de cromosomas es múltiple del número básico. Se opone a aneuploide.

Fenología: Estudio de los fenómenos biológicos acomodados a cierto ritmo periódico, como la brotación, la florescencia, la maduración de los frutos, etc.

Gametófito: Generación de células haploides que termina produciendo células reproductoras sexuales, los gametos.

Genoma monoploide: un set de cromosoma de un organismo, donde su DNA tiene como número cromosómico base a X.

Globoso: De forma más o menos esférica.

Hipantio: La porción basal de las partes florales (sépalos, pétalos, estambres) cuando se encuentran unidas alrededor del ovario.

Hiperparasitoide: Un parásito, cuyo hospedero es otro parásito.

Hirsuto (ta): Cubierto de pelos largos más o menos tiesos y erectos.

Híspido (da): Cubierto de pelos muy rígidos y largos.

Inciso: Con divisiones o hendiduras profundas y agudas.

Lanceolado (da): De base más o menos amplia, redondeada y atenuada hacia el ápice.

Laxo (xa): Poco denso o poco espeso.

Linear: Prolongado y angosto, de márgenes más o menos paralelos.

Microespecie: Poblaciones mínimamente diferenciadas derivadas de la reproducción uniparental.

Parasitoide: Parásito que mata a su hospedero cerca del tiempo que en que completa su desarrollo.

Pericarpo: La cubierta del fruto que corresponde a la hoja carpelar, consiste de exocarpo, mericarpo y endocarpo.

Piloso (sa): Con pelos suaves y largos.

Ploidía: Fenómeno concerniente al aumento en el número de guarniciones cromosómicas. Viene a ser un sinónimo de poliploidía

Plumoso: Con aspecto de pluma.

Pseudógamo: Dícese en un proceso apomíctico, cuando el endospermo se forma cuando existe un incentivo de fertilización.

Revoluto: Con los márgenes enrollados sobre el envés.

Saco embrionario: Célula de gran tamaño que se halla en el interior de la nucela. En el extremo del saco embrionario, más próximo al micrópilo, se encuentra la ovocélula y dos células más conocidas como sinérgidas, hacia el extremo opuesto están tres células llamadas antipodales y en el centro del saco dos núcleos polares.

Sericeo (a): Con pelos largos y sedosos, generalmente adpresos.

Subarbusto: Planta semejante a un arbusto, generalmente pequeña y solo lignificada en la base.

Tomentoso (sa): Con pelos largos y muy entrecruzados.

Tricolporado: Dícese de los granos de polen que tienen tres surcos meridiánicos con poros.

Triploidía: Con tres sets de cromosomas en una célula.

Turbinado: En forma de cono invertido, estrecho en la base y ancho al ápice.

Urceolado: En forma de olla.

Villoso (sa): Con pelos largos y suaves, curvados pero no afelpados.

X: Símbolo para el número cromosómico de un genoma monoploide y para el número cromosómico base en una serie poliploide generativa de organismos relacionados.

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Fernanda Samaniego Pinto, CI 1714262043 autora del trabajo de graduación intitulado: “Biología reproductiva de *Lachemilla hirta* (L. M. Perry) Rothm. y *Lachemilla hispidula* (L. M. Perry) Rothm. en los Páramos de Oyacachi”, previa a la obtención del grado académico de LICENCIADA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en la facultad de Ciencias Exactas y Naturales:

- 1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENECYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
- 2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 25 de abril del 2014

Srta. Fernanda Samaniego Pinto

C.I. 1714262043